ISSN 1347-4804

和光純薬時報

April 2006
Vol.74 No.2

触媒活性の比較

〔総　説〕

〔化学大家〕

〔製品紹介〕

官能基選択的接触還元触媒「パラジウム－フィブロイン」

岐阜薬科大学　佐治木 弘尚

1 はじめに

最近、筆者らが開発したPd/C－エチレンジアミン複合体［Pd/C（en），和光純薬より発売．詳細は19ページ］はベンジルエーテルやベンジルアルコール類、脂肪族アミンの*N*-Cbz基、エポキシドおよびTBDMS基に対する水素化分解活性を持たないため、これらの官能基存在下、他の還元性官能基の選択的接触還元を可能とする触媒である[1)]。我々は反応の多様性や応用性といった観点から、異なる官能基選択性を持った新規不均一系接触還元触媒の開発研究を継続している。今回Pd/C（en）とは異なる官能基選択性を示す触媒、すなわち、絹の構成タンパクであるフィブロインにPd を担持したパラジウム－フィブロイン複合体触媒（Pd/Fib）を開発した。

2 Pd/Fib の調製と物性

Pd（OAc）$_2$をメタノールに溶解した赤褐色の溶液（Fig. 1，b）中に、無色のフィブロイン繊維（精練糸，a）を浸して放置したところ徐々に黒色に着色し（c-e）、溶液（b）は4日後には無色透明に変化した（e）。黒色フィブロインを濾過した後、メタノールで十分洗浄し減圧下乾燥することで2.5 % Pd/Fib触媒を調製した（f）。Pd/Fibは、室温下試薬瓶中で安定に保存でき発火性を全く示さない。また、はさみで切断して量り取り、反応後は濾過するのみで除去できる点に特徴がある[3, 4)]。

なお最近の研究で、精練糸をPd（OAc）$_2$のメタノール溶液に浸した後超音波処理すると、調製時間が大幅に短縮される（12時間）ことを見いだし、より実用的な調製法として確立した[5)]。

Pd/Fib触媒が黒色であることからPdは調製中に０価に還元されたものと考えられる。還元剤としてメタノールに注目し、触媒の調製後に得られた無色透明メタノール溶液中（Fig. 1，e）のホルムアルデヒドと酢酸を定量した。その結果、理論生成量の72%に相当するホルムアルデヒドと90%の酢酸が定量されたことから、溶媒として用いたメタノールが還元剤として作用していることが明らかとなった（Scheme １）。

3 官能基選択的接触還元法への適用

1．芳香族カルボニル基共存下でのオレフィンの選択的接触還元

芳香族カルボニル基はPd/Cにより容易に還元を受け、ベンジルアルコールを経由してさらに水素化分解されメチレン化合物へと変換される。また、Pd/C（en）触媒ではベンジルアルコールが水素化分解されないため、ベンジルアルコールを選択的に合成できる[1)]。一方、2.5% Pd/Fibは芳香族カルボニル基の接触還元に対する触媒活性を持たないことが明らかとなった（Scheme ２）。

そこで2.5% Pd/Fibを触媒として、芳香族カルボニル基共存下での他の還元性官能基の選択的接触還元を検討した。その結果、メタノール中芳香族ケトン（Table １, Entries １-６）および芳香族アルデヒド（Entries ７ and ８）を還元することなくオレフィンのみを選択的に水素化することができた。

2．芳香族ハロゲン共存下でのオレフィンおよびアジドの選択的接触還元

芳香族ハロゲンはPd/CやPd/C（en）を用いた接触還元では水素化分解を受け脱ハロゲンされる[1, 6, 7)]。従って、不均一系Pd触媒を用いた接触還元では、芳香族ハロゲン共存下、他の還元性官能基の選択的接触還元は困難であった。

ところが、2.5% Pd/Fibは芳香族ハロゲンの接触還元に対する触媒活性をほとんど示さず、芳香族ハロゲン共存下、オレフィンやアジドのみを選択的に還元することができた（Table ２）。

3．ベンジルエステル共存下でのオレフィンおよびアジドの選択的接触還元

ベンジルエステルは化学的に比較的安定であり、Pd/Cを触媒とした中性接触還元条件下容易に脱保護されるため、カルボン酸の保護基として幅広く利用されている。しかし接触還元工程を含む有機合成ではベンジルエステルの使用は困難であり、保護基のかけ替え等が必要である。そこで、Pd/Fibの適用性を確認すべく、同一分子内にベンジルエステルとオレフィンまたは

Figure １．Preparation of Pd/Fib catalyst

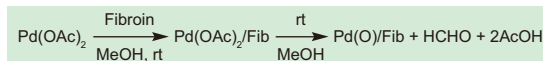
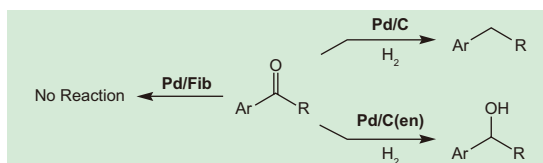
$Pd(OAc)_2 \xrightarrow[\text{MeOH, rt}]{\text{Fibroin}} Pd(OAc)_2/Fib \xrightarrow[\text{MeOH}]{\text{rt}} Pd(0)/Fib + HCHO + 2AcOH$

Scheme １．Mechanism of Pd/Fib generation

Scheme ２．Reduction of aromatic carbonyls

Table 1. Chemoselective hydrogenation of olefin in the presence of aromatic carbonyl

Entry	Substrate	Time (h)	Product	Yield (%)
1	O, Ph, Ph	30	O, Ph, Ph	97 (99^a, 97^b)
2	O, Ph, Ph	3	O, Ph, Ph	100
3	HO, Me, O	37	HO, Pr, Me, O	99
4	OH, O, Ph, HO, Ph, O	46	OH, O, Pr, Ph, HO, Ph, O	74
5	O, Ph, CO_2H	2	O, Ph, CO_2H	quant
6	O, Me, CO_2H	10	O, Me, CO_2H	99
7	Ph, CHO	24	Ph, CHO	100
8	CHO, O	27	CHO, OPr	100

^{a}5 atm of pressure of hydrogen. ^{b}The reaction was performed at 50℃.

Table 2. Chemoselective hydrogenation of olefin and azide functionalities using 2.5% Pd/Fib

Entry	Substrate	Time (h)	Product	Yield (%)
1	Cl	24	Cl, Et	100
2	Cl, O, Ph	20	Cl, O, Ph	98
3	Ph, O, Cl	21	Ph, O, Cl	99
4	Et, O, Cl, Cl, OCH_2CO_2H	12	Et, O, Cl, Cl, OCH_2CO_2H	100
5	N_3, Cl	24	NH_2, Cl	91
6	Br	24	Br, Et	100
7	Br, Br, Br, Br, CO_2, CO_2	3	Br, Br, Br, Br, CO_2Pr, CO_2Pr	94

Table 3. Chemoselective hydrogenation of olefins and azide in the presence of benzyl esters

Entry	Substrate	Solvent	Time (h)	Product	Yield (%)
1	CO_2Bn	CD_3OD	6	$EtCO_2Bn$	81
2		THF-d_8	7		91
3	CO_2Bn	CD_3OD	6	*i*$PrCO_2Bn$	69
4		THF-d_8	7		93
5	CO_2Bn	MeOH	23	Me, Et, CO_2Bn	50
6		MeOH	18		77
7	Ph, CO_2Bn	MeOH	24	Ph, CO_2Bn	33
8		THF	24		98
9	O, CO_2Bn	MeOH	8	PrO, CO_2Bn	99
10	CO_2Bn, CO_2Bn	MeOH	12	CO_2Bn, CO_2Bn	100
11	CO_2Bn	MeOH	6	CO_2Bn, Et	97
12	N_3, CO_2Bn	MeOH	17	H_2N, CO_2Bn	100

アジドを有する基質を用いて、接触還元を行った（Table 3）。

その結果、オレフィンと共役したベンジルエステルは比較的水素化分解されやすく、メタノール中ではオレフィンの還元と同時に一部ベンジルエステルの脱保護が進行した（Entries 1, 3, 5 and 7）。しかし、溶媒をTHFに変更することでベンジルエステルの脱保護を完全に抑制することができ、オレフィンの選択的接触還元のみが効率よく進行した（Entries 2, 4, 6 and 8）。なお、基質によってはメタノール中でも脱ベンジル化は全く進行せず、オレフィンやアジド基のみを高選択的に還元することができた（Entries 9-12）。従って、2.5% Pd/Fib触媒とメタノールまたはTHFを組み合わせることでベンジルエステル存在下、オレフィンやアジドが高選択的に還元されることが明らかとなった[3b, 8]。

4. *N*-CBZ保護基共存下でのオレフィンおよびアセチレンの選択的接触還元

Pd/Cを用いた接触還元で容易に脱保護されるCbz基はアミノ基の保護基として汎用されているが、Cbz基を有する基質を接触還元工程で使用する場合保護基の掛け替えが必要である。我々は、Pd/C (en) 触媒とTHFによる溶媒効果を組合わせることで、脂肪族*N*-Cbz基の脱保護が選択的に抑制されることを見いだし、脂肪族*N*-Cbz基共存下でのオレフィンやベンジルエステルの選択的接触還元法として確立している（Scheme 3）[1]。なお芳香族アミンの*N*-Cbz基はPd/C (en) 触媒を用いた接触還元条件下、容易に水素化分解される（Scheme 4）[1]。しかし、2.5% Pd/Fibは芳香族*N*-Cbz基の水素化分解に対する触媒活性を全く示さな

Table 4. Chemoselective hydrogenation of olefins in the presence of aromatic *N*-Cbz

Entry	Substrate	Solvent	Time (h)	Product	Yield (%)
1	NHCbz	MeOH	44	NHCbz	64
2		THF	5		92
3	Ph-N(Cbz)	MeOH	48	Ph-N(Cbz)	97
4	CO_2 ... Ph / NHCbz	THF	24	CO_2 ... Ph / NHCbz	48
5		THF	34		99
6	CbzHN ... CO_2 ... 4	MeOH	25	CbzHN ... CO_2 ... 5	50
7		MeOH	22		100
8	NHCbz	MeOH	32	NHCbz	92

Scheme 3.

Scheme 4.

Figure 2.

いため[3b, 8)]、分子内に他の還元性官能基が共存する基質を用いて官能基選択的接触還元を検討した。

その結果、メタノール中では一部脱保護が進行したが（Entry 1）、THFの使用により脱保護は完全に抑制され（Entry 2）、芳香族*N*-Cbz基存在下、オレフィン（Entries 2, 3, 5 and 7）またはアセチレン（Entry 8）のみを選択的に還元することができた。なお、常圧で不飽和結合の還元が進行しにくい場合には、3～5気圧の水素圧をかけたがCbz基の脱保護は全く観察されなかった（Entries 5 and 8）。

4 おわりに

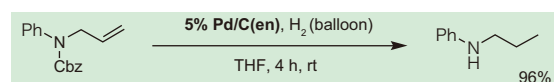
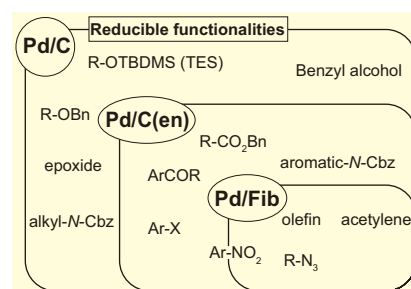
以上、Pd/Fib触媒の調製と官能基選択的接触還元法への応用を紹介した。Pd/FibはPd/CやPd/C（en）を触媒とした場合、容易に還元される芳香族カルボニル基、芳香族ハロゲン、ベンジルエステルおよび芳香族*N*-Cbz基に対する還元活性を示さず、これら官能基共存下、オレフィン、アセチレンおよびアジドを選択的に還元することができる。従って、Pd/Fib、Pd/C（en）およびPd/Cの使い分けにより、Fig. 2に示す種々の還元性官能基間での選択的接触還元が可能である[9, 10)]。Pd/FibならびにPd/C（en）が広く有機合成の場で活用されることを期待している。

本研究にあたりご助言と自由な研究環境を与えて頂いた廣田耕作岐阜薬科大学名誉教授（愛知学院大学薬学部教授）並びに、研究を精力的に遂行していただいた井川貴詞博士（MIT, Buchwald研究室）をはじめとする共同研究者諸氏に感謝致します。

〔参考文献〕

1）(a) 佐治木弘尚，廣田耕作：有機合成化学協会誌，**59**，109（2001）.；(b) 佐治木弘尚，廣田耕作："*Organic Square*（*WAKO*）"，**12**，1（2004）.

2）安藤悦郎，今堀和友，鈴木友二：「タンパク質化学4」，（共立出版）（1978）.

3）(a) Sajiki, H., Ikawa, T. and Hirota, K. : *Tetrahedron Lett.*, **44**, 171 (2003).；(b) Ikawa, T., Sajiki, H. and Hirota, K. : *Tetrahedron*, **61**, 2217 (2005).

4）赤堀らは40年ほど前にPdを絹に吸着した触媒を高温・高圧・強酸性条件下調製しているが，触媒活性の再現性に乏しく，実用的使用には至らなかった。Akabori, S., Sakurai, S., Izumi, Y. and Fujii, Y. : *Nature*, **178**, 323 (1956).

5）投稿準備中.

6）(a) Sajiki, H. : *Tetrahedron Lett.*, **36**, 3465 (1995).；(b) 佐治木弘尚：薬学雑誌，**120**，1091（2000）.

7）(a) Sajiki, H., Kume, A., Hattori, K. and Hirota, K. : *Tetrahedron Lett.*, **43**, 7247 (2002).；(b) Sajiki, H., Kume, A., Hattori, K., Nagase, H. and Hirota, K. : *Tetrahedron Lett.*, **43**, 7251 (2002).

8）Sajiki, H., Ikawa, T. and Hirota, K. : *Tetrahedron Lett.*, **44**, 8437 (2003).

9）井川貴詞，佐治木弘尚，廣田耕作：有機合成化学協会誌，**63**，1218（2005）.

10）佐治木弘尚：ファルマシア，**42**，140（2006）.

プロセス研究者のためのUmicore-Solvias C-X-カップリング触媒キット：工業レベルにも使用可能な高活性かつ空気中で安定なパラジウム触媒を用いた、塩化アリール、臭化アリール、アリールスルホン酸塩のC-C/C-Nカップリング反応

Umicore AG & Co. KG　Christophe Le Ret
Solvias AG　Marc Thommen (Ph.D.)
ユミコアプレシャスメタルズ・ジャパン株式会社　青木　啓道、岡部　和世

1　はじめに

Buchwald-Hartwigアミノ化反応や鈴木カップリング反応、Heck反応、ケトンのアリール化反応など、パラジウム触媒を利用するカップリング反応は産学界問わず非常に重要である[1]（スキーム1）。シンプルなパラジウム塩触媒は、高い反応性を持つ基質である臭化アリールや芳香族ジアゾ化合物などに対しては有効であるが、工業的に魅力があるものの反応性に乏しい基質である塩化アリールやトシレートなどに対しては、リガンドを添加することにより活性や安定性を増大させる必要がある。この場合、より良い結果を得るためには正しいリガンド選択がキーポイントになる。近年そのような電子豊富で嵩高い第三級ホスフィンやカルベンリガンドを用いたパラジウム錯体の開発が進んでいる。

しかしその多くは不活性雰囲気下でのハンドリングが必要であり、取扱いが困難なことが、工業化へのスケールアップの障害となっている。ユミコア社とソルビアス社はリガンドとして嵩高い第三級ホスフィンやカルベンを予め配位させたパラジウム触媒を開発した。これらの触媒の大きな特徴は、空気や湿気に対する安定性と、作業・取扱い・保管の容易性にある。従って工業レベルでも問題なく容易に取り扱うことが可能である。以下に、両社が開発した触媒を反応例と共に紹介する。

2　一成分系触媒1：ユミコア社のカルベン系パラジウム触媒4種 - (IPr)Pd(allyl)Cl、(IMes)Pd(allyl)Cl、[(IPr)Pd(NQ)]$_2$、[(IMes)Pd(NQ)]$_2$

ユミコア社は4種類のパラジウム－含窒素複素環式カルベン系触媒を開発し、現在工業レベルで製造している（スキーム2）。いずれの触媒も空気および水中における高い安定性を示し、緩やかな反応条件下においても迅速に活性なパラジウム(0)錯体を形成する。また、反応適用範囲が広いのもこれらの触媒の特徴である。以下に鈴木－宮浦カップリング反応、アリール化合物のアミノ化反応、およびHeck反応についてその利用例を紹介する。詳細は各参考文献を参照されたい。

2-プロパノール（試薬グレード）を用いた鈴木－宮浦反応

電子豊富で低活性な塩化アリールと立体障害の大きいボロン酸とのカップリング反応が本触媒により進行し、室温下において高収率で*O*-二-および三-置換ビアリールが合成される[2,3]。溶媒は試薬グレードの2-プロパノール、塩基としてNaO*t*-Buを使用している。鈴木－宮浦反応は、有機ホウ素化合物が持つ入手の容易性、利便性、熱安定性、低毒性、高い官能基許容性など様々な利点を背景に、化学工業分野において様々な検討がなされている。ユミコア社の触媒は、溶媒として安価でかつ環境負荷の低い2-プロパノールなどを用いることができ、また試薬グレードの溶媒でも実施可能である。室温下の反応条件においても高収率で目的物を与える（スキーム3、表1）。

塩化アリールのBuchwald-Hartwigアミノ化反応

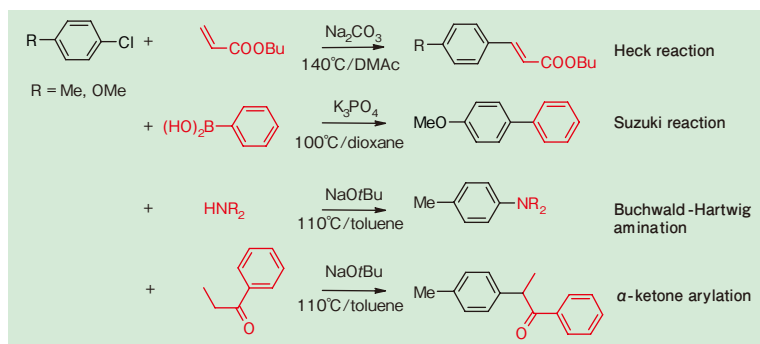
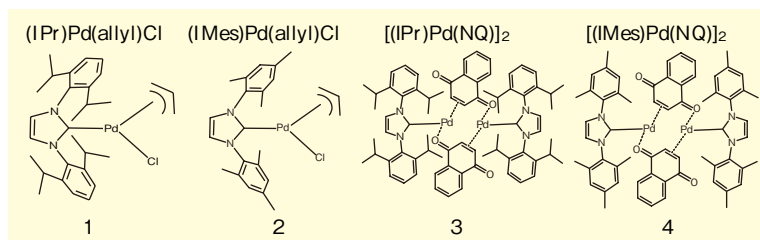
容易にスケールアップ可能なBuchwald-Hartwigアミノ化反応を確立するために、本反応におけるユミコア社触媒3［(IPr)Pd(NQ)]$_2$の反応性について評価した。その結果緩やかな反応条件（100℃、＜0.5mol% -Pd）

スキーム1．パラジウム系触媒によるC-Xカップリング反応例と典型的な反応条件

スキーム2．ユミコア社のカルベン系パラジウム触媒

表1．鈴木－宮浦反応への適用例および室温・50℃での反応性

Catalyst	Yield[a][%](50℃)	Yield[a][%](RT)
1	93	12
3	88	23
4	86	86

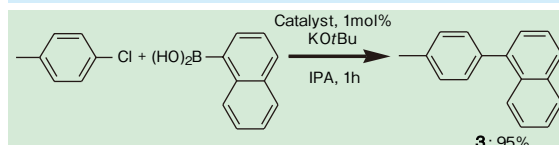
[a]GC yields, average of 2 runs

スキーム3．鈴木－宮浦反応への適用例

表2．ユミコア社触媒錯体3によるアミノ化反応例

Compound	Yield (%)	Compound	Yield (%)
F_3C N O	95	O N O	27 (48)[a]
N N O	81	NC N O	88[a]
N O	95	N O O	67
N O	93 (83)[b]	NH	85

Conditions : 1.00mmol arylchloride, 1.50mmol amine, 0.50mol% cat, 3.00mmol KOH, 4mL dioxane,100℃, 16h, isolated yields
[a]with NaO*t*-Bu as base
[b]30.0mmol arylchloride, 40.0mmol amine, 0.05mol% cat, 75.00mmol KOH, 40mL dioxane

の下、塩基として安価なKOH（標準グレード）を利用した簡便な合成法を見出すことができた[4]。表2に示したように、ユミコア社触媒3［(IPr)Pd(NQ)］$_2$ は第一級および第二級の芳香族／脂肪族アミンに対して注目に値する反応性を示し、また様々な官能基や立体障害の大きいアミンに対して高い反応性を示した。

エノール化可能なケトンや加水分解を起こしやすい基質の場合は、KOHの代わりにNaO*t*-Bu のような無水塩基の使用が必要となる。触媒使用量を抑えつつ、目的物を高い収率で得ることが可能である。

Heck反応

“グリーン溶媒”としてイオン性液体を使用したHeck反応は、沸点の高さや低蒸気圧、更にリサイクル可能という利点から注目され、中でもテトラアルキルアンモニウム塩の利用は安価で入手も容易なために注目を集めている。そこで、活性及び不活性な塩化アリールのHeck反応について、ユミコア社触媒4［(IMes) Pd (NQ)］$_2$ の効果を確認した。その結果、どちらの塩化アリールでも高収率で反応が進行した。更に、活性な塩化アリールでは、0.1mol％まで触媒濃度を低下させても高収率で目的物を得ることができた[5]。

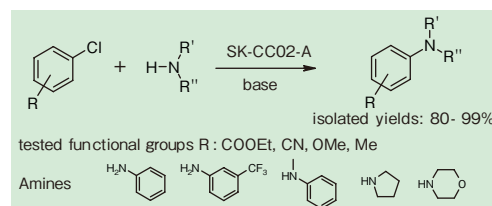
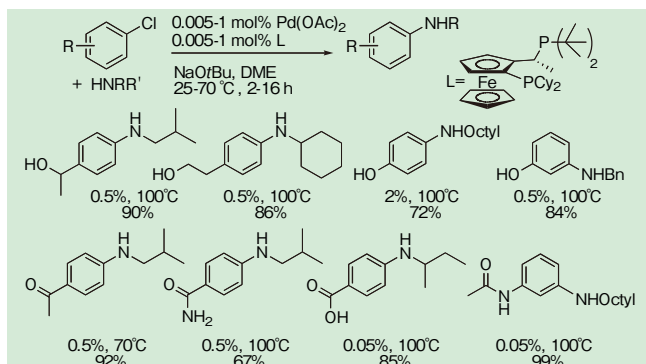
3 一成分系触媒2：ソルビアス社の嵩高い二級ホスフィンが配位したパラダサイクル触媒2種 - SK-CC01-A、SK-CC02-A

ソルビアス社の一成分パラジウム触媒は、塩化アリールのBuchwald-Hartwigアミノ化反応やHeck反応、鈴木カップリング反応、ケトンのアリール化反応に対して高い触媒活性を持つ。SK-CC01-A はスキーム4左に示すとおり、C-Cカップリング反応および単純構造を持つアニリンのアミノ化反応に対して非常に有効である。一方SK-CC02-A は、脂肪族および環状脂肪族アミンや立体障害の大きいアニリンのアミノ化反応に適している（スキーム4右）[6]。

ソルビアス社の触媒は、ライフサイエンス分野で一般的な、複雑な構造を有する化合物の合成において重要なファクターである官能基許容性についていずれも非常に優れている。SK-CC01-A、SK-CC02-Aとも、ベンチスケール、パイロット、および実生産の全てのレベルで非常に有効な触媒である。

また、アミノ化反応では、塩基と溶媒とをうまく組み合わせることにより、触媒添加量が0.05mol％以下でも高い収率で目的の化合物を得ることが可能である（スキーム5）。一般的な反応条件としては、塩基としてNaO*t*Bu、Cs_2CO_3、K_3PO_4、溶媒としてToluene、Dioxane、DME、温度条件60℃-130℃で検討すると良い。

さらに、本触媒の溶媒中での安定性

スキーム4．左：SK-CC01-A の適用例、右：SK-CC02-A の適用例（触媒量 0.5mol%、2時間）（詳細は参考文献参照[6]）

スキーム5．アミノ化反応における SK-CC02-A の官能基への許容性

スキーム６．塩化アリールのカップリング反応例

スキーム７．ヘテロ環塩化物のカップリング反応例

について確認したところ、両触媒ともDioxane中で3週間以上触媒活性を失わずその性能を保持した。これにより触媒溶液を予めまとめて調製しておき、複数の反応槽へ並列供給することができるため、製造時の大きな利点となる。

4 ソルビアス社のリガンドとユミコア社の前駆体を用いた二成分系触媒ー*in situ* 混合での効果的CN-カップリング反応

本触媒キットには、これまでご紹介した一成分系触媒の他に、ソルビアス社の空気中で安定なジホスフィンリガンドSL-J002-1、SL-J009-1と、ユミコア社のパラジウム塩触媒$Pd(OAc)_2$及びPd-dbaとが入っている。これらは*in situ*で混合することが可能で、取扱いや安定性に優れている。

以下、米Yale大学のJohn F. Hartwig教授によって報告された、本リガンドとパラジウム塩の組み合わせによるC-N-カップリング反応例を紹介する。

50-100 ppm触媒量での塩化アリールのカップリング反応

Josiphos SL-J009-1リガンドと酢酸パラジウムとの組み合わせにより、第一級アミンと塩化アリールから第二級アリールアミンが高選択的に合成された。その際、第三級アミンはほとんど合成されなかった。反応基質によっては、50-100ppm程度の触媒添加量のみで高収率に目的物を得ることができた[7]（反応条件　溶媒：DME、塩基：NaO*t*-Bu、反応温度：25-100℃）（スキーム６）。ヘテロ環化合物に対しても同様に高い触媒活性を示した（スキーム７）。クロロフェノール類であっても高い選択性で目的とするヒドロキシアニリン類を得ることが可能である。

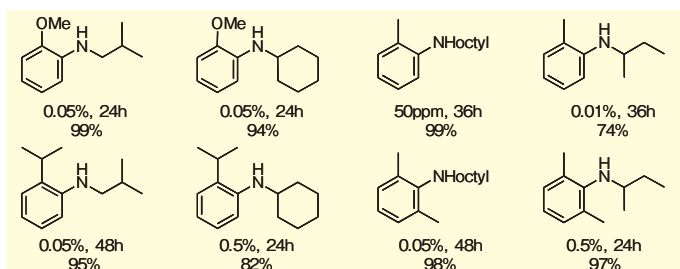
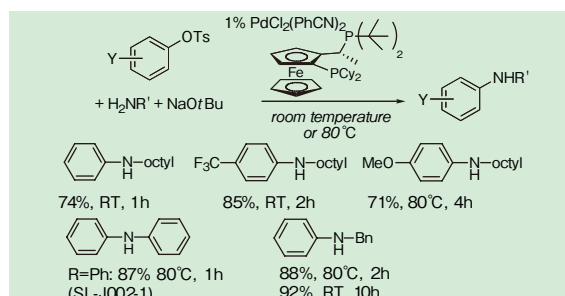
触媒添加量は反応基質に強く依存するため、個々に最適条件を探索する必要がある。その中で、ppmオーダーの低い触媒添加量で高い反応性を発揮させるには、使用するアミン、塩化アリールの品質を高めることが非常に重要である。臭化アリールの場合も同様である（スキーム８）。

アリールトシレートのカップリング反応

Josiphos SL-J002-1またはSL-J009-1リガンドと、酢酸パラジウムまたはその他パラジウム系触媒前駆体との組み合わせにより、第一級アミンとアリールトシレートから第二級アリールアミンが高選択的に合成された[8]。触媒添加量は、ハロゲン化アリールに比べると高めとなる（スキーム９）。

最後に

今回和光純薬工業株式会社を通して発売されるC-X-カップリング触媒キットには、以上ご紹介したパラジウム触媒が盛り込まれており、工業的に重要なほとんどのカップリング反応について適用が可能である。ターゲットとなる反応に対し最高のパフォーマンスを発揮させるためには、キット内の触媒を個々にテストされることがキーポイントであると考えている。我々は最近の検討事例から、本キットは、標的のカップリング反応を高い確率で成功へと導くものと確信している。

本キット内の触媒が持つハンドリングや保存の容易性、工業規模へのスケールアップのしやすさという特徴により、本C-X-カップリング触媒キッ

スキーム８．臭化アリールのカップリング反応例（100℃、DME中）

スキーム９．アリールトシレートのカップリング反応例[7,8]

トは、医薬品合成化学からプロセスケミストにいたるまで、幅広い研究者にとって非常に魅力的なツールになると考えている。

〔参考文献〕

1）(a) Tsuji, J. : "*Palladium Reagents and Catalysts*", John Wiley and Sons Ltd., Chichester (1995). ; (b) Diederich, F. and Stang, P. J. : "*Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*", Wiley-VCH, Weinheim (1998). ; (c) Stark, G., Riermeier, T. H. and Beller, M. : "*Transition Metals for Organic Synthesis*", ed. by Beller, M. and Bolm, C., Wiley-VCH, Weinheim, Vol. 1, p. 208 (1998). ; (d) Old, D. W., Wolfe, J. P. and Buchwald, S. L. : *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 9722 (1998). ; (e) Fox, J. M., Huang, X., Chieffi, A. and Buchwald, S. L. : *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 1360 (2000). ; (f) Kawatsura, M. and Hartwig, J. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 1473 (1999). ; (g) Roncali, J. ; *J. Chem. Rev.*, **92**, 711 (1992).

2）Navarro, O., Kelly, R. A. Ⅲ. and Nolan, S. P. : *J. Am. Soc.*, **125**, 16194 (2003).

3）Navarro, O., Oonishi, Y., Kelly, R. A., Stevens, E. D., Briel, O. and Nolan, S. P. : *J. Organomet. Chem.*, **689**, 3722 (2004).

4）Goossen, L. J., Paetzold, J., Briel, O., Rivas-Nass, A., Karch, R. and Kayser, B. : *Synlett*, **2**, 275 (2005).

5）Selvakumar, K., Zapf, A. and Beller, M. : *Org. Lett.*, **Vol. 4**, No. 18, 3031 (2002).

6）(a) Indolese, A. F. and Schnyder, A. : EP-113 2361 (2000) (assigned to Solvias AG). ; (b) Schnyder, A., Indolese, A. F., Studer, M. and Blaser, H. U. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 3668 (2002). ; (c) Nettekoven, U., Naud, F., Schnyder, A. and Blaser, H. U. : *Synlett*, **14**, 2549 (2004).

7）Shen, Q., Shekar, S., Stambuli, J. P. and Hartwig, J. F. : *Angew. Int. Ed.*, **44**, 1371 (2005).

8）Roy, A. H. and Hartwig, J. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 8704 (2003).

Olfactory marker protein (OMP) from PAGE band to structure and function : An overview.

Department of Anatomy and Neurobiology, Program in Neuroscience, School of Medicine, University of Maryland, Baltimore
Frank L. Margolis Ph. D. and Jae Hyung Koo Ph. D.

Abstract

The peripheral vertebrate olfactory system is comprised of the olfactory sensory neurons (OSNs) that reside high in the nasal vault within the olfactory neuroepithelium. The axons of these neurons form Cranial Nerve I that innervates the olfactory bulb of the CNS. These mature chemosensory neurons can be replaced from progenitor cells throughout the life of the animal and are characterized by the expression of the olfactory marker protein (OMP) that is a unique hallmark of them. The identification and characterization of this protein will be the primary subject of this essay after we address the biology of the olfactory system. Excellent overviews of the anatomy, neurobiology, function and clinical aspects of the olfactory system are found in Doty, R. L. *et al.*[1].

Introduction

The vertebrate olfactory neuroepithelium (OE) is a generative neuroepithelium that is a site of continuing neurogenesis throughout life (Figure 1). This is an unusual property of OSNs as the vast majority of central nervous system (CNS) neurons are not capable of being replaced and, if damaged or destroyed as a result of trauma or disease are irrevocably lost. By contrast, in all vertebrates mature OSNs that die or degenerate for whatever reason are replaced from mitotically active progenitors residing in this generative neuroepithelium. These newly formed neurons undergo maturation and can correctly reform synaptic connections with their neuronal targets in the olfactory bulb (OB) of the CNS that were lost as a result of the degeneration of the dying OSNs. This progenitor mitotic activity and subsequent neuronal maturation is associated with changes in gene expression in the OE. The accompanying process of degeneration of the synaptic terminals in the olfactory bulb is also associated with transynaptic alterations in gene expression[2,3]. Thus, olfactory bulb neuron phenotype is modulated by degeneration and regeneration of the OSNs and their associated synaptic activity in the OB. In addition to alterations in connectivity, the olfactory bulb neuronal phenotype can be manipulated by alterations in afferent OSN activity. This has been demonstrated by altering or restricting peripheral odor stimulation resulting in modulation of gene expression in target neurons in the olfactory bulb[4]. Current studies in my lab demonstrate that gene expression in deeper cortical areas that receive olfactory input can also be modulated by manipulation of afferent input to the OB[5, and Kim, H. H. *et al.*, in prep.]. Taken together all these studies confirm that the central and peripheral portions of the olfactory system are extremely plastic and responsive to manipulations of the external odor environment. In addition, olfactory function is modulated by administration of various systemically administered drugs. These include agents used in chemotherapeutic treatments of cancer, chronic alcohol abuse, and other therapeutic and environmental agents[1,6]. Clearly it is critical to identify unique molecular reagents that will facilitate the study of this system.

Figure 1. Schematic of olfactory neuroepithelium.

The olfactory neuroepithelium is avascular and rests on a highly vascularized substratum studded with glands whose ducts project to the surface. Non-neuronal sustentacular (supporting) cells are interspersed among the mature olfactory sensory neurons (OSNs). Neuronal precursor cells lie at the base of the olfactory epithelium (OE). The panel illustrates the life cycle of the OSN. Precursor globose basal cells (GBC) undergo mitosis, migration, maturation and differentiation to mature OSNs that express olfactory marker protein (OMP) and odor receptors. Immature neurons express GAP43. Additional markers permit identification of various stages of OSN differentiation and of the various cell types in the OE. Axons of OSNs project to the olfactory bulb where they synapse with mitral and tufted cells and juxtaglomerular interneurons. The expression of dopamine (DA), its biosynthetic enzyme tyrosine hydroxylase, and fos in tufted cells and interneurons, is regulated by OSN activity. Modified from G. Ronnett.

Discovery of OMP

Therefore, we began to search for neuronal cell-specific examples of gene expression in this pathway. The thought was that such proteins could serve as reagents to study the physiology and function of individual classes of neurons in the presence of their cellular neighbors. This may seem somewhat naive today but we refer to a time when many of the standard techniques of contemporary biology were still undreamed of and in the future. Thus, it is important to recall that this investigation began before the advent of monoclonal antibodies, 2D gel electrophoresis, recombinant DNA, PCR, transgenic mice, etc. Indeed we have adopted these various techniques as they arose and have applied them in order to unravel the role of this protein in the olfactory system.

We began by using the low resolving power of 1D non-denaturing gel electrophoresis to search for small acidic proteins that exhibited CNS regional specificity. Extracts of mouse brain regions exhibited quantitative and qualitative differences in staining patterns across CNS regions and in the olfactory system an apparently unique protein band was observed that was absent from other regions of the CNS. To study this in detail, and to study the function of this novel protein, it was necessary to obtain purified homogeneous protein and generate antisera to it. Olfactory tissue was collected from many rats and the protein was purified to homogeneity using the mobility in PAGE as an assay. This purified protein was then used to generate polyclonal antisera[7,8]. These antisera to the protein were used to characterize its immunoreactivity in several species and many brain regions. It rapidly became apparent

the protein was conserved across many vertebrate species and was restricted almost exclusively to the mature olfactory neurons[9,10]. As a result, and in the absence of any information about its function, we called the protein OMP (Olfactory Marker Protein). Even now, over 30 years later, its function is only beginning to be unraveled. The OMP has been demonstrated to be present in all mammals tested including humans, in several species of fish, in marsupials, in amphibia, and as best as we can tell is present in mature olfactory neurons of all vertebrate species[11]. The antisera to OMP gave no evidence of immunologically cross-reactive materials in any invertebrate species. The critical question that remained unanswered was that of function. However, even in the absence of knowledge of its function, the nearly unique specificity of the antiserum for mature olfactory neurons has proven to be an extremely valuable reagent. It has been invaluable for studies of olfactory neurogenesis in developing animals, and in response to surgical and chemical lesions of the olfactory system. Its broad phylogenetic cross reactivity has made this antiserum valuable for immunocytochemical studies of the olfactory system in species as diverse as mice (Figures 2a, b) and humans (Figure 3). In addition, the presence of the OMP throughout the cytoplasm of the OSN has also made the antiserum a valuable reagent for the study of the organization of the olfactory bulb during development[12,13,14] and its response to disturbances of the olfactory system. Immunocytochemistry with this antiserum has facilitated these studies by both light and electron microscopy[15]. Curiously, the OMP was also identified in a small subpopulation of neurons in the hypothalamus[16,17] (Figure 4).

Cloning and mapping of the OMP gene

In addition to the interest in understanding the function of the OMP another gnawing question was to learn why it is so highly restricted to the mature OSNs. The growing availability of recombinant DNA technology provided opportunities to learn more about the mechanisms regulating the highly selective expression of this protein. We determined the amino acid sequence of OMP from HPLC purified tryptic peptides using semi-automated peptide sequencing. Knowing the protein sequence facilitated new directions in the study of this protein and its gene. Peptide sequence information permitted prediction of degenerate oligo-nucleotides that could then be used to identify OMP cDNA clones from an olfactory neuroepithelium library. With this information it was possible to generate additional reagents to study the distribution of the OMP mRNA confirming its virtual restriction to expression in mature OSNs. Further it allowed the mapping of the OMP gene to a defined area of mouse chromosome 7 and human chromosome 11 that was near the locus for an hereditary auditory defect called shaker-1 in mouse and Usher syndrome in humans respectively. The OMP gene was isolated and characterized leading to the demonstration that the entire OMP gene was contained in a single exon and that only one copy of it existed in the genome[18,19].

This information and the determination of the nucleotide sequence of this genomic region enabled us to analyze the genomic elements that were responsible for the highly restricted pattern of OMP expression. Using *in vitro* DNA-binding gel-shift assays we were able to identify and characterize the upstream regulatory elements of the OMP gene. Several of the promoter elements of the OMP gene were identified and it became clear that at least one such element was present in several genes whose expression pattern was highly selective for regulating genes preferentially expressed in the OSNs [20,21,22].

OMP transgenic and knock-out mice

This set the stage to take advantage of the then novel technology for generating transgenic mice to perform promoter analyses *in vivo* in OSNs[23,24]. The OMP promoter was then used by many laboratories to drive expression of various genes into mature OSNs *in vivo* to analyze the biology of the olfactory system. One of the most powerful ways to do this was to utilize the technique of homologous recombination in mice *in vivo* by which a known gene can be inserted into the exact genomic locus normally occupied by OMP[25]. This allowed the normal genomic regulatory elements that regulated the expression of OMP to drive the expression of an ectopic gene that could be used a probe of function. In one such example the OMP was replaced by the fluorescent protein EGFP leading to the identification of a group of OMP expressing olfactory neurons in an anatomical site that was previously unknown[26,27,28]. This technology also offered an opportunity to overcome one glaring deficit, that of the function of OMP. After all of these studies we still did not have any insight as to the function of this protein whose expression was developmentally regulated and phylogenetically conserved. Indeed

(a)

(b)

Figure 2.
(a) OMP immunostaining of mouse olfactory neuroepithelium visualized by confocal microscopy. The OSN cell bodies are apparent with their dendritic processes projecting to the surface of the epithelium where they terminate in dendritic knobs. The OSN axons project centrally and gather into bundles seen in round cross sections. Koo, J. H. *et al*. (2005).

(b) OMP immunostaining of mouse olfactory bulb (OB) visualized by confocal microscopy. The OSN axons are seen penetrating the surface of the olfactory bulb where they gather into globular neuropil containing structures called glomeruli. No staining is seen deeper in the OB indicative of the specificity of the antiserum. Koo, J. H. *et al*. (2005).

Figure 3. Immunostaining for OMP in human olfactory tissue.
Mature olfactory neurons are stained brown in the middle of the olfactory epithelium with their dendritic processes projecting to the surface of the epithelium where they end in dendritic knobs. OMP-stained axon bundles are visible deep in the epithelium. Buiakova, O. I. *et al*. (1994).

with the advent of extensive gene cloning and with the sequencing of whole genomes it became clear that the gene for OMP was present in every vertebrate species analyzed. The predicted amino acid sequences are >50% identical across all vertebrate species. The gene for this protein is absent from the genomes of invertebrate species including *Drosophila*, *C. elegans*, as well as from unicellular eucaryotes such as yeast. Nevertheless it became apparent that comparison of its amino acid sequence with all the sequences in the databases did not identify any functional domains that might provide information as to its function.

Function of OMP

Therefore, we utilized the technique of homologous recombination noted above to generate mice in which the OMP gene was deleted[29]. This promised to provide an entrée to function as any novel phenotype observed in the absence of any OMP *in vivo* would provide clues as to function of the OMP. We were not disappointed in this hope. The OMP mice appeared superficially normal but careful electrophysiological and behavioral analyses demonstrated that the OMP-null mice were deficient in their olfactory function. The OMP-null mice were responsive to odors but required 50–100 times higher concentrations to achieve the same behavioral responses as the wild-type intact mice[30]. In addition, their electrophysiological responses exhibited a delayed recovery to baseline compared to controls indicating that they were somehow compromised in their ability to recover after odor stimulation[29, 31]. Other studies demonstrated that the OMP-null mice were generally compromised in several parameters associated with their ability to respond to odors[32, 33]. Curiously although the expression of OMP protein is stringently regulated and highly conserved phylogenetically its effect on olfactory transduction processes is quite subtle. We expected dramatic effects on various aspects of olfactory-mediated behavior such as those associated with mating, maternal care, food finding etc. but instead its role is more of a modulator. Ongoing studies to identify exactly where in the overall sensory transduction process are underway[34].

Figure 4. OMP immunostaining in mouse hypothalamus visualized by confocal microscopy.
The ventricle is apparent as a vertical dark area to the left of the figure. A subset of neurons stained with OMP are evident, as are numerous axonal processes throughout the figure. Koo, J. H. *et al*. (2005).

Where in the process was not clear as the molecular steps in the transduction cascade appear to be all well characterized without requiring the presence of an additional component. Furthermore, two olfactory subsystems, the main olfactory system and the vomeronasal system both express OMP but they utilize very different transduction cascades[35, 36]. Since OMP is abundant in both subsystems it is difficult to see how it fits in these pathways. One option is that it plays a role not in the primary response transduction pathway, but that it plays a role in regulating the mechanisms associated with return of intracellular calcium to basal levels[34]. To date, these questions, while still unanswered, are under investigation. Nevertheless, all the evidence indicates that OMP is a participant in the overall olfactory transduction cascade.

Structure of OMP

Another complementary approach to learn something of OMP function was being pursued simultaneously. Possibly the primary amino-acid sequence of the protein is not *per se* a direct determinant of function, but is the basis of a conserved element of the three dimensional structure of OMP that is critical to its function in olfactory transduction. Therefore, we undertook to determine the 3-dimensional structure of OMP in solution[37, 38]. To address this we utilized heteronuclear NMR spectroscopy to determine the structure of OMP in solution. Another group independently determined the structure by X-ray crystallography[39]. Both structures are essentially identical and demonstrate that OMP exhibits the beta clam fold formed from eight beta strands and a pair of helical domains and two loops. One of the loops is in the so-called omega loop configuration that is postulated to participate in protein-protein interaction. This loop is highly flexible and could adopt a more ordered structure on interaction with a protein partner. This is consistent with the postulated role of OMP in transduction and in its interaction with the Bex protein[15, 17, 37, 40].

Conclusion

These brief comments are intended to illustrate the potential importance of the OMP in olfactory function and the value of the antiserum for studies of the degeneration, regeneration and function of the olfactory system in all vertebrates including humans.

〔Literature cited〕

1) "Handbook of olfaction and gustation," ed. by Doty, R. L., Marcel Dekker, Inc. New York (2003).
2) Baker, H., Kawano, T., Margolis, F. L. and Joh, T. H. : "Transneuronal regulation of tyrosine hydroxylase expression in olfactory bulb of mouse and rat.", *J. of Neurosci.*, **3**, 69-78 (1983).
3) Margolis, F. L., Verhaagen, J., Biffo, S., Huang, F. L., and Grillo, M. : "Regulation of gene expression in the olfactory neuroepithelium: a neurogenetic matrix." *Prog Brain Res.*, **89**, 97-122 (1991).
4) Cho, J. Y., Min, N., Franzen, L. and Baker, H. : "Rapid down-regulation of tyrosine hydroxylase expression in the olfactory bulb of naris-occluded adult rats.", *J. Comp. Neurol.*, **369** (2), 264-76 (1996).
5) Kim, H. H., Puche, A. C. and Margolis, F. L. : "Odorant deprivation reversibly modulates NR2B-mediated CREB phosphorylation in mouse piriform cortex.", *A. Chem. S.*, abstract (2006).
6) Schiffman, S. S. and Zervakis, J. : "Taste and smell perception in the elderly : effect of medications and disease.", *Adv. Food Nutr. Res.*, **44**, 247-346 (2002).
7) Margolis, F. : "A brain protein unique to the olfactory bulb.", *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **69**, 1221-1224 (1972).
8) Keller, A. and Margolis, F. L. : "Immunological studies of the rat olfactory marker protein.", *J. Neurochem.*, **24**, 1101-1106 (1975).
9) Monti-Graziadei, G. A., Margolis, F. L., Harding, J. W. and Graziadei, P. P. C. : "Immunocytochemistry of the olfactory marker protein.", *J. Histochem. Cytochem.*, **25**, 1311-1316 (1977).
10) Farbman, A. I. and Margolis, F. L.: "Olfactory marker protein during ontogeny : Immunohistochemical localization.", *Dev. Biol.*, **74**, 205-215 (1980).
11) Margolis, F. L. : "Olfactory marker protein (OMP).", *Scand. J. Immunol. Suppl.*, **9**, 181-99 (1982).
12) Kim, H. and Greer, C. A. : "The emergence of compartmental organization in olfactory bulb glomeruli during postnatal development.", *J. Comp. Neurol.*, **422** (2), 297-311 (2000).
13) Kasowski, H. J., Kim, H. and Greer, C. A. : "Compartmental organization of the olfactory bulb glomerulus.",

J. Comp. Neurol., **407** (2), 261-74 (1999).
14) Kosaka, K., Toida, K., Margolis, F. L. and Kosaka, T. : "Chemically defined neuron groups and their subpopulations in the glomerular layer of the rat main olfactory bulb-II. Prominent differences in the intraglomerular dendritic arborization and their relationship to olfactory nerve terminals.", *Neuroscience*., **76** (3), 775-86 (1997).
15) Koo, J. H., Gill, S., Pannell, L., Menco, B. and Margolis, F. L. : "The interaction of Bex and OMP reveals a metabolically active covalent dimer of OMP.", *J. Neurochem*., **90**, 102-116 (2004).
16) Baker, H., Grillo, M. and Margolis, F. L. : "Biochemical and Immunocytochemical Characterization of Olfactory Marker Protein in Rodent Central Nervous System.", *J. Comp. Neurol*., **285**, 246-261 (1989).
17) Koo, J. H., Saraswati, M. and Margolis, F. L. : "Immunolocalization of Bex protein in the mouse brain and olfactory system.", *J. Comp. Neurol*., **487** (1), 1-14 (2005).
18) Danciger, E., Mettling, C., Vidal, M., Morris, R. and Margolis, F. L. : "The OMP gene : Its structure and olfactory neuron specific expression in transgenic mice.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*., **86**, 8565-8569 (1989).
19) Buiakova, O., Rama Krishna, N.S., Getchell, T.V. and Margolis, F.L. : "Human and Rodent OMP genes : Conservation of structural and regulatory motifs and cellular localization.", *Genomics*, **20**, 452-486 (1994).
20) Wang, M. M., Tsai, R. Y., Schrader, K. A. and Reed, R. R. : "Genes encoding components of the olfactory signal transduction cascade contain a DNA binding site that may direct neuronal expression.", *Mol. Cell Biol.*, **13** (9), 5805-13 (1993).
21) Kudrycki, K., Stein-Izsak, C., Behn, C., Grillo, M., Akeson, R. and Margolis, F. L. : "Olf-1-binding site : characterization of an olfactory neuron-specific promoter motif.", *Mol. Cell Biol*., **13** (5), 3002-14 (1993).
22) Behrens, M., Venkatraman, G., Gronostajski, R. M., Reed, R. R. and Margolis, F. L. : "NFI in the development of the olfactory neuroepithelium and the regulation of olfactory marker protein gene expression.", *Eur. J. Neurosci*., **12** (4), 1372-84 (2000).
23) Walters, E., Grillo, M., Oestreicher, A. B. and Margolis, F. L. : "LacZ and OMP are co-expressed during ontogeny and regeneration in olfactory receptor neurons of OMP promoter-lacZ transgenic mice.", *Int. J. Dev. Neurosci*., **14** (7-8), 813-22 (1996).
24) Margolis, F. L. : "Regulation of olfactory neuron gene expression.", *Cytotechnology*, **11**, 17-22 (1993).
25) Mombaerts, P., Wang, F., Dulac, C., Chao, S. K., Nemes, A., Mendelsohn, M., Edmondson, J. and Axel, R. : "Visualizing an olfactory sensory map.", *Cell*, **87** (4), 675-86 (1996).
26) Storan, M. J. and Key, B. : "Septal organ of Gruneberg is part of the olfactory system.", *J, Comp. Neurol*., **494** (5), 834-44 (2006).
27) Fuss, S. H., Omura, M. and Mombaerts, P. : "The Grueneberg ganglion of the mouse projects axons to glomeruli in the olfactory bulb.", *Eur. J. Neurosci*., **22** (10), 2649-54 (2005).
28) Koos, D. S. and Fraser, S. E. : "The Grueneberg ganglion projects to the olfactory bulb.", *Neuroreport*., **16** (17), 1929-32 (2005).
29) Buiakova, O. I., Baker, H., Scott, J. W., Farbman, A., Kream, R., Grillo, M., Franzen, L., Richman, M., Davis, L. M., Abbondanzo, S., Stewart, C. L. and Margolis, F. L. : "Olfactory Marker Protein (OMP) Gene Deletion Alters Physiological Activity Of Olfactory Neurons.", *Proc. Nat. Acad. Sci*., **93**, 9858-9863 (1996).
30) Youngentob, S. and Margolis, F. L. : "OMP gene causes an elevation in behavioral threshold sensitivity.", *Neuroreport*, **10**, 15-19 (1999).
31) Ivic, L., Pyrski, M., Margolis, J. W., Richards, L. J., Firestein, S. and Margolis, F. L. : "Adenoviral vector mediated rescue of the OMP-null mouse.". *Nature Neuroscience*, **3**, 1113-1120 (2000).
32) Youngentob, S. L., Kent, P. F. and Margolis, F. L. : "OMP gene deletion results in an alteration in odorant-induced mucosal activity patterns.", *J. Neurophysiol*., **90** (6), 3864-73 (2003). Epub 2003 Aug 13.
33) Youngentob, S. L., Margolis, F. L. and Youngentob, L. M. : "OMP gene deletion results in an alteration in odorant quality perception.", *Behav. Neurosci*., **115** (3), 626-31 (2001).
34) Kwon, H. J., Leinders-Zufall, T., Koo, J. H. and Margolis, F. L. :"The absence of OMP causes compromised NCX activity in the mouse olfactory receptor neurons.", *Soc. for Neurosci*., Abstract (2005).
35) Lucas, P., Ukhanov, K., Leinders-Zufall, T. and Zufall, F. : "A diacylglycerol-gated cation channel in vomeronasal neuron dendrites is impaired in TRPC2 mutant mice : mechanism of pheromone transduction.", *Neuron*., **40** (3), 551-61 (2003).
36) Berghard, A., Buck, L. B., and Liman, E. R. : "Evidence for distinct signaling mechanisms in two mammalian olfactory sense organs.". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*., **93** (6), 2365-9 (1996).
37) Baldisseri, D. M., Margolis, J. W., Weber, D. J., Koo, J. H. and Margolis, F. L. : "Olfactory marker protein (OMP) exhibits a beta-clam fold in solution : implications for target peptide interaction and olfactory signal transduction.", *J. Mol. Biol*., **319** (3), 823-37 (2002).
38) Wright, N.T., Margolis, J. W., Margolis, F.L.and Weber, D. J. : "Refinement of the solution structure of rat Olfactory Marker Protein (OMP).", *J. Biomol. NMR*., **33** (1), 63-8 (2005).
39) Smith, P. C., Firestein. S. and Hunt, J. F. : "The crystal structure of the olfactory marker protein at 2.3 A resolution.", *J. Mol. Biol*. **319** (3), 807-21 (2002).
40) Behrens, M., Margolis, J. W. and Margolis, F. L. : "Identification of members of the Bex gene family as olfactory marker protein (OMP) binding partners.", *J. Neurochem*, **86**, 1289-1296 (2003).

SERIES

Talking of LAL

和光純薬工業株式会社　土谷　正和

第 63 話　プラスチック製品とエンドトキシン試験

使い捨てのプラスチック製品は便利です。エンドトキシン試験でもプラスチック製品を使用することがまれではありません。このシリーズでも何度かプラスチック用具について考えてきました（Talking of LAL 第 15 話、第 16 話、第 55 話参照）。今回は、もう一度プラスチック製品の使用について考えてみたいと思います。

アメリカ人の友人がこんなことを言っていました。「1990 年代の後半にプラスチック製品の添加剤に関係した規制が変わり、ポリプロピレン製の用具からそれまでと異なる物質が溶出し、これがリムルス試薬の反応を阻害した。そのため、リムルス試薬に関連したラボから、ポリプロピレン製の用具が消えた。」と。

その友人は、リムルス試薬には造詣が深く、知識と経験が豊富なので、その言葉に間違いがあるとは思えません。しかし、筆者らのラボでは、水をポリプロピレン製の遠心管に入れたり、ポリプロピレン製のピペットチップを使用したりしていますが、特に阻害を経験したことがありません。ある種のポリプロピレン製用具がエンドトキシンを吸着することは、以前報告した通りです[1)]。エンドトキシンの吸着

ではないかと、その友人に尋ねましたが、リムルス試薬をその容器に入れると感度が下がったとのことなので、やはり阻害物質が出ていたのかもしれません。

筆者は、第 15 話で、リムルス試験に使用する用具に要求される条件として、「エンドトキシン（LAL 活性化物質）の汚染がないこと」、「エンドトキシンや試料を吸着しないこと」、「エンドトキシンの活性に影響を与えないこと」を挙げています。もし、プラスチックから阻害物質が出るとすると、「リムルス試薬の活性化に影響を与える物質が溶出しないこと」も付け加える必要があるでしょう。日本薬局方には「マルチウェルプレート及びマイクロピペット用チップなどのプラスチック製品を用いる場合は、エンドトキシンが検出されないこと及びエンドトキシン試験に対する干渉作用のないことが確認されたものを用いる。」と記載されています。「エンドトキシン試験に対する干渉作用がない」とは、筆者が考えた条件のいくつかを包括した表現で、言い得て妙と言えるでしょう。

さて、上記のようなことも考慮してプラスチック製品の「エンドトキシン試験に対する干渉作用」を調べる方法を考えてみましょう。筆者としては、まずリムルス試験に干渉を与える因子が溶出していないこと、次にエンドトキシンの汚染がないこと、最後にエンドトキシンの吸着がないことを調べる作戦を考えています。すなわち、まず容器の水抽出液に対してエンドトキシンの添加回収試験を行い、抽出液中にリムルス試験に対する反応干渉因子が含まれないことを確認します。次に、エンドトキシン検出用抽出液（和光純薬）を用いてエンドトキシンの汚染を調べます。エンドトキシン検出用抽出液の効果に関しては、筆者らの論文[1)]をご参照下さい。最後に、エンドトキシン溶液を容器に入れ、その活性の変化を調べます。抽出液に反応干渉因子が含まれず、エンドトキシンの汚染も検出されず、入れたエンドトキシン溶液の活性が変化しなければ、その容器は使用してもよいと判断できると思うのですが、いかがでしょうか。

エンドトキシン試験で用いる器具は、高い温度で乾熱できるガラス用具が主に用いられます。いわば、エンドトキシン試験における器具のゴールドスタンダードはガラス器具です。しかし、ガラス器具にも問題がないわけではありません。ガラスの種類によっては、微量金属の溶出によりエンドトキシン活性が低下することもあります（Talking of LAL 第 10 話参照）。もし、ガラス器具が、単に乾熱によってエンドトキシンを不活性化できるという理由だけで選ばれてきたとすると、もう少し慎重に考える必要があるかもしれません。

筆者はなにも、ガラス用具よりプラスチック用具の方を推奨しようとしているのではありません。エンドトキシン試験に使用する用具の満たすべき条件を考え、これらを確認していく必要があるのではないかと考えているのです。

それにしても、プラスチックの微量添加物質が使用者に予告なしに変更され、溶出する主成分以外の物質が変化するというのであれば、定期的に使用するプラスチック製品の性能を確認することも考える必要があるのでしょうか。

〔参考文献〕

1）土谷正和　他：防菌防黴誌，**24**, 357（1996）.

次回は、第 64 話「LAL は無菌製剤か」の予定です。

コード No.	品　名	規　格	容　量	希望納入価格（円）
293-51601	Endotoxin Extracting Solution	エンドトキシン検出用	10mℓ × 4	15,000

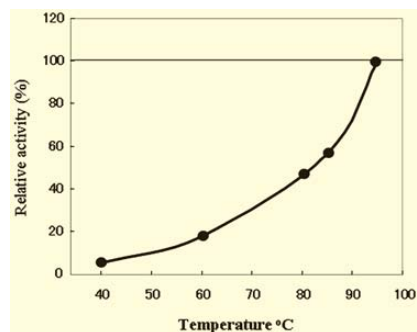
Technical Report

産業利用のための耐熱性酵素

株式会社　耐熱性酵素研究所　奥　　崇

はじめに

「酵素」とはいったいなんでしょう？　人によって酵素に対するイメージは違うと思います。一口に「酵素」といいましても様々なものがあるからだと思います。また、最近では健康ブームに乗って酵素入り食品、酵素入りドリンク、酵素風呂などなどいかにも身体にとっていいものとして扱われています。それらの効能はさておきその「酵素」の実体から簡単にご説明させていただきます。酵素とは簡単に言うと生体中で行われる化学反応を触媒する蛋白質です。つまり働きを持った蛋白質すべてが酵素といえます。ここを読んでいらっしゃる方には釈迦に説法とは存じますが酵素が蛋白質であるというところがこれからお話しするひとつのポイントとなりますのであえて述べさせていただきました。

蛋白質というと食卓に並ぶ魚、肉などを想像していただければわかると思いますがダイニングテーブルの上に生のまま放置すると様々な細菌やカビが繁殖します。これがいわゆる「腐敗」という現象です。酵素も蛋白質である以上同じように腐敗をします。これまで産業的に酵素の利用という面に関しまして必ずついて回るのが腐敗、つまり雑菌の繁殖をいかに抑えるかという点であります。雑菌を繁殖させないためには短時間の反応、または厳重な滅菌管理を行わなければいけませんでした。そのため酵素は使い捨てが多くなったり一回の反応に使用する酵素量が多くなったり色々と大変な面がありました。そこで少ない酵素量で、雑菌の繁殖の心配もなく、長時間の反応に耐えうる酵素が必要とされてきました。超耐熱性酵素はこれらすべての問題を解決できる可能性を秘めて開発されました。

産業技術総合研究所および耐熱性酵素研究所では産業用に広く使用できる超耐熱性酵素の開発に取り組んでまいりました。もう一度まとめますと超耐熱性酵素のメリットといたしましては、１）様々な雑菌の繁殖を抑えることができる、２）反応温度を高くする（85℃以上）ことで反応速度を上げることが出来る、３）物理的に高温にさらされる状態においても比較的安定に活性を維持することが出来る、４）有機溶媒中においても酵素活性を維持することが出来る、等があげられます。これら以外にも今後いろいろな利用法が現れてくると考えられます。

さて、以下に現時点で提供できる酵素について簡単に説明させていただきます。

超耐熱性セルラーゼ

超耐熱性古細菌*Pyrococcus horikoshii*のゲノム中より見出された超耐熱性のセルロース分解酵素です。セルロースに切り込みを入れる作用をもついわゆるエンド型のセルラーゼです。結晶性セルロースに作用させますと見た目などに変化は見られにくいですが、その後にエキソ型を含むようなセルラーゼで分解を行うと、耐熱性セルラーゼで処理をしたものは分解効率が上がることが示されています（図１）。

超耐熱性キチナーゼ

超耐熱性古細菌*Pyrococcus furiosus*より見出された超耐熱性のキチン分解酵素です。実はこの酵素はゲノム上では一塩基の挿入によって分断されていました。その塩基を修復することで全長の遺伝子が明らかとなり、さらにその中に含まれる活性部位のうち、最も強力な部分を取り出すことに成功しました。このキチナーゼはこれまで酵素的に分解することが困難であったα-型の結晶性キチンを分解することが出来ます。分解産物は主に*N*-アセチルグルコサミンの２量体（キトビオース）になり、単量体もある程度生成します。３～４量体の生成はみられません。これまでキトオリゴ糖を作成する際には強酸で分解していましたが、そうすることによって①脱アセチル化が起こること、②生成物であるオリゴ糖の重合度が一定しないこと、の２つの問題点が存在します。酵素で分解を行うことの大きなメリットはアセチル基を保護できるということ、分解産物が

図１．超耐熱性セルラーゼの活性温度依存性

図２．実際のキチン基質分解の様子
左よりコロイド状キチン、イカキチン、カニキチンを分解した様子を撮影した。
それぞれ左側は酵素を添加していないもの、右は酵素添加後85℃で３時間加温したものである。

一定であることです。特殊な工程をマイルドな条件で行うことの出来る酵素ならではの特性だと思います（図２）。

超耐熱性システイン合成酵素

超耐熱性古細菌*Aeropyrum pernix*より見出された超耐熱性のシステイン合成酵素です。従来のシステイン合成酵素は不安定な*O*-アセチルセリンを出発物質としていましたがこの酵素は*O*-ホスホセリンを原料とします。*O*-ホスホセリンはアセチルセリンと比較して、非常に熱安定性が高いのが特徴で耐熱性酵素を用いた物質生産に最適です。この酵素はホスホセリンにスルフィドを付加する反応を行いますが、スルフィドの供与体に様々な物質を選ぶことによって種々のシステイン誘導体の合成ができる可能性があります（図３）。

図３.

超耐熱性イノシトール１リン酸合成酵素

超耐熱性古細菌*Aeropyrum pernix*より見出された超耐熱性のイノシトール１リン酸合成酵素です。グルコース６リン酸からイノシトール１リン酸を生成します。生体内でのシグナル伝達やリン脂質合成に関係するイノシトールの生合成を行う酵素群のひとつで、イノシトールに関係する生体機能を研究するための試薬の調製に使われます。従来の酵素と比較して、安定かつ高速にイノシトール１リン酸を合成することが出来ます。

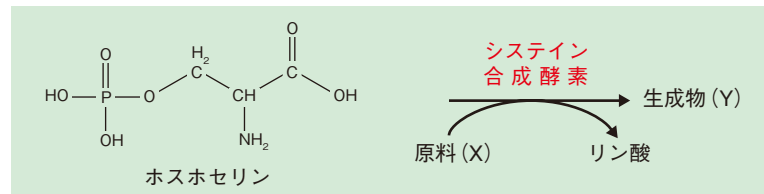
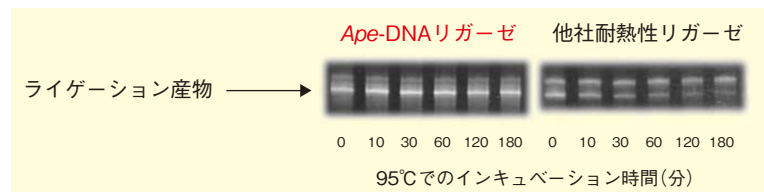



図４. *Ape*-DNAリガーゼの熱安定性

超耐熱性DNAリガーゼ

超耐熱性古細菌*Aeropyrum pernix*より見出された超耐熱性のDNA連結酵素です。ATP存在下でDNA二本鎖上に存在するニックを連結することが出来ます。実際に近縁種などの超耐熱性DNAリガーゼが市販されていますがそれらを凌駕する熱安定性を持っています。現行の酵素の活性の半減期は95℃で１時間といわれていますが本酵素の活性の半減期は105℃で１時間であり、95℃においては３時間以上にわたって活性に変化は見られません。今後、遺伝子診断など様々な分野への応用が期待されています（図４）。

超耐熱性グルタミン酸脱炭酸酵素

超耐熱性古細菌*Pyrococcus horikoshii*より見出されたグルタミン酸脱炭酸酵素です。グルタミン酸を脱炭酸して、γ-アミノ酪酸（GABA）を生成します。これまで知られているグルタミン酸脱炭酸酵素と比較して高いpHで反応するため、高濃度のグルタミン酸溶液を反応に用いることが可能となり、効率的なγ-アミノ酪酸の生産が可能です。このγ-アミノ酪酸には、精神安定作用、血圧降下作用、皮膚老化防止作用等の生理作用があることが知られており、生理活性を有する食品素材・家畜飼料または香粧品への応用が期待されています。また、γ-アミノ酪酸は、生分解性の高いナイロン４を構成するモノマーとしても知られており、カーボンニュートラルの見地から、その有用性は広がっていくものと考えられます。

以上、いくつかの酵素を上げさせていただきましたが、今後色々な場面で酵素を用いた数々の産業展開が行われてゆくことを期待しております。

Products Wako

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格（円）
294-64201	DNA Ligase, thermostable, recombinant, solution	遺伝子研究用	25 μℓ	30,000
030-19871	Cellulase, thermostable, recombinant, solution	生化学用	1 mℓ	30,000

近日発売予定

コードNo.	品名	規格	容量
034-19891	Chitinase, thermostable, recombinant, solution	生化学用	1 mℓ
037-19881	Cystein synthetase, thermostable, recombinant, solution	生化学用	1 mℓ
071-05191	Glutamic acid decarboxylase, thermostable, recombinant, solution	生化学用	1 mℓ
090-05381	Inositol 1-monophosphate synthetase, thermostable, recombinant, solution	生化学用	1 mℓ

黄連（おうれん）と黄柏（おうばく）

名古屋市立大学大学院　水上　元

動脈硬化とは、動脈が硬く、もろくなる状態をさしている。中・大動脈におこる動脈硬化は特に粥状動脈硬化またはアテローム動脈硬化といい、進行すると心筋梗塞や脳梗塞をひきおこすことになる。この２つの病気による死亡は日本人の死亡原因の約30％をしめ、ガンによる死亡を上回って、我が国での死亡原因のトップを占めている。粥状動脈硬化は動脈の血管内皮細胞の損傷が引き金となって起こる炎症性疾患で、最終的に血管平滑筋細胞の脱分化と増殖が誘導されて、脂質に富んだ泡沫細胞、平滑筋細胞などからなる沈着物（アテローム）が形成されることになる（図１）。

動脈硬化の治療薬としては、血管平滑筋細胞の増殖を抑制してアテロームの形成を抑える作用を示す薬物はまだなく、高血圧、高脂血症などのリスクファクターをターゲットとするものがほとんどである。また、これらの薬物が心筋梗塞や脳梗塞の発症を防ぎ、死亡率を減少させるというエンドポイントで評価した場合に本当に有効であるかどうかについても議論がわかれている。このように真の有効性が不明確で、かつ高価な新薬ではなく、比較的副作用が少なく、かつ安価な漢方薬やいわゆる健康食品で動脈硬化の進行が防げないだろうかとは、高齢化というリスクファクターを抱える筆者のみならず誰もが考えるところであろう。

図１．Apo Eノックアウトマウスに自然発症した粥状動脈硬化

漢方医学では生体の恒常性は気（き）・血（けつ）・水（すい）の３つの要素で維持されているとしている。このうちの血とは、全身をめぐる赤い液体であり、その不足を『血虚（けっきょ）』、その循環の異常を『瘀血（おけつ）』という名前の病態としてとらえている。漢方医学的には、動脈硬化症はまさに『瘀血』によるものである。『瘀血』の治療には『駆瘀血』という薬能を持った多数の漢方薬が準備されている。

我々は駆瘀血作用を持つとされる16種類の漢方薬を対象にして平滑筋細胞増殖抑制作用を検討した結果、『温清飲（うんせいいん）』という漢方薬だけが細胞増殖を抑制することを示した。そこで、『温清飲』を構成する８種の生薬抽出物について個別に増殖抑制効果を検討したところ、黄連抽出物が平滑筋細胞の増殖抑制効果を示し、『温清飲』の作用は黄連によるものであることが明らかになった。黄連抽出物の効果は平滑筋細胞に特異的であり、他の細胞の増殖は抑制しない。また平滑筋細胞に対して細胞毒性を示すことなく、細胞周期をG０/G１期およびG２/M期で停止させることによって細胞増殖を抑制している。さらに、黄連中の平滑筋細胞増殖抑制成分の探索を行ったところ、この作用はベンジルイソキノリンアルカロイドの１種coptisineによるものであった（図２）。coptisineと同じベンジルイソキノリンアルカロイドのうち、メチレンジオキシ基を１つ持つ黄連の主アルカロイドberberineの増殖抑制効果はcoptisineよりも弱く、またメチレンジオキシ基を持たないpalmatineには活性はなかった（図３）。

図２．黄連に含有されるベンジルイソキノリンアルカロイド

黄連（図４）は、日本薬局方ではキンポウゲ科の植物であるオウレン*Coptis japonica*、*C. chinensis*、*C. deltoidea*の根茎であると規定されている。このうちオウレンは日本に分布する植物で、葉の分裂の程度に応じてキクバオウレン*C. japonica* var. *japonica*、セリバオウレン*C. japonica* var. *dissecta*、コセリバオウレン*C. japonica* var. *major*の３つの変種がある。日本産の黄連として使用されているのは現在ではほとんどがセリバオウレンで、杉林などの下生えとして野生しているほか、林業農家の副業として栽培もされている。兵庫県産のものに対して丹波黄連、島根県産のものに因州黄連という名前も付けられている。しかし日本で流通している黄連のほとんどは中国産のものである。中国で普通に黄連といえば*C. chinensis*を基原とするもの（味連とも呼ばれる）で、その他*C. deltoides*は雅連、*C. teeta*は雲黄という名前で流通している。

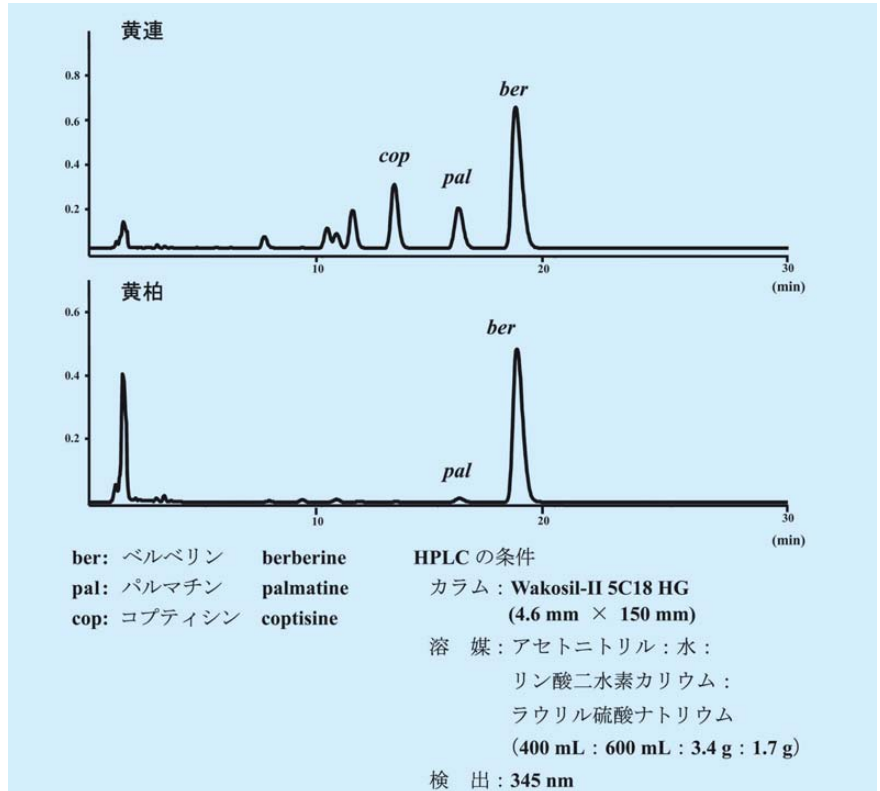
黄連の含有化学成分としては何といってもベンジルイソキノリン骨格を持つアルカロイドが有名である。その主成分であるberberineは強い苦味を示し、抗菌作用、抗炎症作用をはじ

図３．coptisine、berberine、palmatineの平滑筋細胞増殖抑制作用

図４．黄連（左）と黄柏（右）
左上は国内産、左下は中国産の黄連

図５．黄連と黄柏アルカロイドのHPLC分析

め種々の薬理作用を示し、berberine chlorideとして家庭用整腸薬等にも配合されている。berberineそのものは黄連だけでなく、キンポウゲ科やメギ科に属する各種植物にも含まれており、日本ではberberine chlorideの製造原料としてはミカン科の木本植物であるキハダ（*Phellodendron amurense*）の樹皮、すなわち黄柏（図４）を用いている。黄柏は整腸薬や苦味健胃薬に配合されており（吉野の陀羅尼輔丸や、御岳山の百草丸は黄柏を主薬として配合している）、先ほどの温清飲をはじめ黄連解毒湯などの漢方薬に黄連とともに配合されることも多い。

黄連と黄柏の薬能の差についてはこれまでいろいろと論じられてはきたが、その実体については不明な部分が大きい。いずれにしても、黄連の薬効が主としてberberineによるものだけであるなら黄柏で充分に代用可能なはずだが、漢方の臨床上の経験からは黄連と黄柏とは全く異なる生薬である。我々が平滑筋細胞の増殖抑制作用を持つことを示したcoptisineは、黄柏には含有されていない（図５）。このことは、温清飲構成生薬である黄柏が増殖抑制効果を示さなかった結果とよく一致している。coptisineは黄連と黄柏の薬能の差をもたらしている含有成分の一つであろう。事実、黄連に特徴的な作用として「瘀血性の各種炎症性疾患への作用」を上げている成書もある（佐竹元吉他　監修「漢方210処方生薬解説」じほう、2001年）。

日本薬局方では黄連と黄柏の品質評価にHPLCによるberberineの定量を採用し、黄連では乾燥物に対し、berberine chlorideとして4.2％以上の含量を、黄柏では同じく1.5％以上の含量を求めている。berberine含量はもちろん品質の指標として重要であるが、黄連の品質指標としてはcoptisine含量についても注目していく必要があるかもしれない。

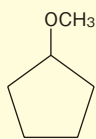
New Products

グリーンケミストリー

新規溶媒

Wako

シクロペンチルメチルエーテル【CPME】

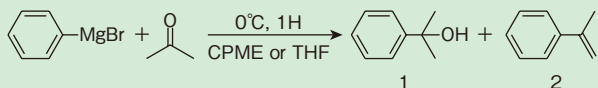
シクロペンチルメチルエーテル（CPME）は、さまざまな有機合成反応や抽出操作においてTHFやジエチルエーテルの代替として使用できる新規溶媒です。水への溶解性が小さく、過酸化物の生成が少ないことから、他のエーテル系溶媒と比較して、取扱いが容易です。

特　長

- 水への溶解性が小さい
- 乾燥が容易
- 過酸化物の生成が少ない

規　格

外　　観：無色～ほとんど無色、澄明の液体
密　　度：0.856 ～ 0.864g/mℓ
水　　分：0.01％以下
過酸化物（H_2O_2 として）：0.005％以下

反 応 例

PhMgBr ＋ acetone —(0℃, 1H / CPME or THF)→ 1 ＋ 2

Solvent	Yield of Products（%）		Sel. of Products（%）	
	1	2	1	2
THF	44.8	33.1	57.5	42.5
THF＋CPME（1:1 vol.）	66.8	14.7	82.0	18.0
CPME	81.9	1.6	98.0	2.0

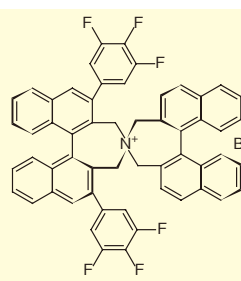
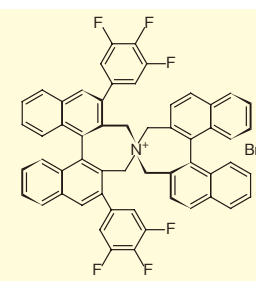
コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
031-19845	Cyclopentyl Methyl Ether, with Stabilizer	和光特級	500mℓ	3,500
039-19841			3ℓ	11,000
037-19847			16kg	照　会

（安定剤　BHT：約 0.005％）

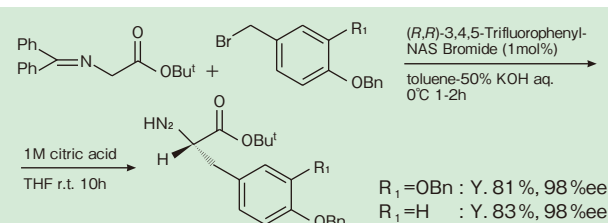
キラル相関移動触媒 (Maruoka catalyst)

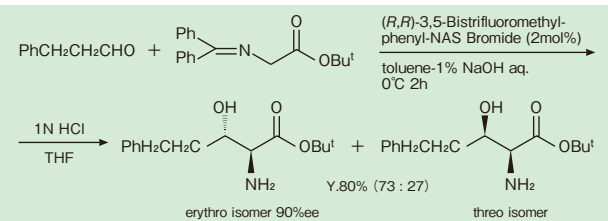
Wako

(*S, S*)-3,4,5-トリフルオロフェニル-NAS=ブロミド
(*R, R*)-3,4,5-トリフルオロフェニル-NAS=ブロミド
(*R, R*)-3,5-ビストリフルオロメチルフェニル-NAS=ブロミド

分子デザインの容易なビナフチル環を二つ有するスピロ型光学活性アンモニウム塩であるキラル相関移動触媒が京都大学の丸岡教授によって考案されました。この触媒は、α,α－ジアルキル－α－アミノ酸の合成にきわめて有効です。さまざまな側鎖を有するα－アミノ酸を不斉合成することができ、製薬、材料、食品の分野で多様な用途があります。

(*S, S*)-3, 4, 5-Trifluorophenyl-NAS Bromide　(*R, R*)-3, 4, 5-Trifluorophenyl-NAS Bromide

反 応 例

α-アミノ酸誘導体の不斉アルキル化反応 [1]

β-ヒドロキシ-α-アミノ酸誘導体への直接不斉アルドール反応 [2]

PhCH2CH2CHO ＋ Ph2C=NCH2CO2Bu^t —((R,R)-3,5-Bistrifluoromethylphenyl-NAS Bromide (2mol%), toluene-1% NaOH aq., 0℃ 2h; 1N HCl, THF)→ PhH2CH2C–CH(OH)–CH(NH2)–CO2Bu^t（erythro isomer 90%ee）＋ PhH2CH2C–CH(OH)–CH(NH2)–CO2Bu^t（threo isomer）　Y.80%（73 : 27）

〔参考文献〕

1）Ooi, T., Kameda, M., Tannai, H. and Maruoka, K.：*Tetrahedron Lett.*, **41**, 8339（2000）.
2）Ooi, T., Taniguchi, M., Kameda, M. and Maruoka, K.：*Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 4542（2002）.

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
NEW 201-16401	(*S, S*)-3,4,5-Trifluorophenyl-NAS Bromide	有機合成用	100mg	30,000
207-16403			500mg	照　会
201-15921	(*R, R*)-3,4,5-Trifluorophenyl-NAS Bromide	有機合成用	100mg	30,000
207-15923			500mg	照　会
029-14921	(*R, R*)-3,5-Bistrifluoromethylphenyl-NAS Bromide	有機合成用	100mg	30,000
025-14923			500mg	照　会

品目追加

Wako

JCSS 認定標準液 (Japan Calibration Service System)

本品は計量法トレーサビリティ制度に適合した標準液です。当社は金属標準液・pH標準液・イオン標準液の校正事業者として、商品１本ごとに、国家計量標準にトレーサブルであることを証明する「校正証明書」を添付しております。

この度、金属標準液８種と臭化物イオン標準液を追加しましたので、ご活用下さい。

■金属標準液

コード No.	品 名	濃度 (mg/ℓ)	成 分	容量	希望納入価格(円)
016-18271	Aluminium Standard Solution	100	$Al(NO_3)_3$ in 0.5mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
016-15471		1,000		100mℓ	2,900
013-18281	Antimony Standard Solution	100	$SbCl_3$ in 3mol/ℓ HCl	100mℓ	4,500
010-15491		1,000		100mℓ	3,100
013-15501	Arsenic Standard Solution	100	As_2O_3 and NaOH in water pH 5.0 with HCl	100mℓ	3,100
013-15481		1,000		100mℓ	2,900
NEW 027-15321	Barium Standard Solution	1,000	$BaCO_3$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	2,500
023-14201	Bismuth Standard Solution	100	$Bi(NO_3)_3$ in 0.5mol/ℓ HNO_3	100mℓ	4,500
021-12661		1,000		100mℓ	3,100
030-16211	Cadmium Standard Solution	100	$Cd(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
036-16171		1,000		100mℓ	2,800
036-17891	Calcium Standard Solution	100	$CaCO_3$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
039-16161		1,000		100mℓ	2,900
037-16221	Chromium Standard Solution	100	$K_2Cr_2O_7$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
030-16191		1,000		100mℓ	2,900
039-17901	Cobalt Standard Solution	100	$Co(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	4,500
033-16181		1,000		100mℓ	3,000
034-16231	Copper Standard Solution	100	$Cu(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
033-16201		1,000		100mℓ	2,700
091-03851	Iron Standard Solution	100	$Fe(NO_3)_3$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,000
094-03841		1,000		100mℓ	2,700
127-04301	Lead Standard Solution	100	$Pb(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	2,900
124-04291		1,000		100mℓ	2,700
NEW 129-05221	Lithium Standard Solution	1,000	Li_2CO_3 in 0.2mol/ℓ HNO_3	100mℓ	2,400
136-13601	Magnesium Standard Solution	100	$Mg(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
136-12121		1,000		100mℓ	2,700
139-12111	Manganese Standard Solution	100	$Mn(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
133-12131		1,000		100mℓ	2,700
135-13671	Mercury Standard Solution	100	$HgCl_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
138-13661		1,000		100mℓ	2,900
NEW 130-14961	Molybdenum Standard Solution	1,000	Mo in 0.4mol/ℓ HCl・0.2mol/ℓ HNO_3	100mℓ	2,400
144-06471	Nickel Standard Solution	100	$Ni(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
147-06461		1,000		100mℓ	2,700
162-19941	Potassium Standard Solution	100	KCl in Water	100mℓ	3,100
165-17471		1,000		100mℓ	2,700
NEW 188-01951	Rubidium Standard Solution	1,000	RbCl in Water	100mℓ	4,900
NEW 192-13861	Selenium Standard Solution	1,000	Se in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	2,500
191-12111	Sodium Standard Solution	100	NaCl in Water	100mℓ	3,100
199-10831		1,000		100mℓ	2,700
NEW 199-13871	Strontium Standard Solution	1,000	$SrCO_3$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	2,500
NEW 205-16301	Thallium Standard Solution	1,000	$TlNO_3$ in 1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	2,900
NEW 202-16311	Tin Standard Solution	1,000	Sn in 3mol/ℓ HCl	100mℓ	2,400
261-01431	Zinc Standard Solution	100	$Zn(NO_3)_2$ in 0.1mol/ℓ HNO_3	100mℓ	3,100
264-01421		1,000		100mℓ	2,700

■イオン標準液

コード No.	品 名	濃度 (mg/ℓ)	成 分	容量	希望納入価格(円)
019-15461	Ammonium Ion Standard Solution	NH_4^+ : 1,000	NH_4NO_3 in 0.02mol/ℓ HNO_3	50mℓ	3,900
NEW 024-15331	Bromide Ion Standard Solution	Br^- : 1,000	KBr in Water	50mℓ	4,500
032-16151	Chloride Ion Standard Solution	Cl^- : 1,000	NaCl in Water	50mℓ	3,900
066-03401	Fluoride Ion Standard Solution	F^- : 1,000	NaF in Water	50mℓ	3,800
143-06441	Nitrate Ion Standard Solution	NO_3^- : 1,000	$NaNO_3$ in Water	50mℓ	3,900
140-06451	Nitrite Ion Standard Solution	NO_2^- : 1,000	$NaNO_2$ in Water	50mℓ	4,000
168-17461	Phosphate Ion Standard Solution	PO_4^{3-} : 1,000	NaH_2PO_4 in Water	50mℓ	4,000
192-10821	Sulfate Ion Standard Solution	SO_4^{2-} : 1,000	Na_2SO_4 in Water	50mℓ	4,000

■pH 標準液

コード No.	品 名	pH 値(25℃)	容量	希望納入価格(円)
151-01845	Oxalate pH Standard Solution	1.68	500mℓ	2,500
168-12145	Phthalate pH Standard Solution	4.01	500mℓ	2,400
165-12155	Phosphate pH Standard Equimolal Solution	6.86	500mℓ	2,400
166-17445	Phosphate pH Standard Solution	7.41	500mℓ	3,300
205-08775	Tetraborate pH Standard Solution	9.18	500mℓ	2,400
037-16145	Carbonate pH Standard Solution	10.01	500mℓ	2,600

官能基選択的接触還元触媒

パラジウム-活性炭素エチレンジアミン複合体

Pd/C（en）はパラジウム活性炭素（Pd/C）のパラジウムとエチレンジアミンが約１：１の割合で複合化した不均一触媒です[1]。中性条件下、さまざまな官能基を選択的に接触還元することが可能です。反応後はろ過するだけで簡単に除去することができます。また、通常のPd/Cに見られるような発火性を示さず、保存安定性を有する優れた還元触媒であり、工業的レベルでの展開が期待されます。

Pd/C（en）を用いた接触還元では、保護基であるベンジルエーテル[2]、脂肪族アミンのZ（benzyloxycarbonyl）基[2, 3]、*O*-TBDMS（*t*-butyldimethylsilyl）基[4]、エポキシド[5]及びベンジルアルコール[6]の還元を抑制しながら、オレフィン、アジド、ニトロ、ベンジルエステル、芳香族ハロゲンなどの官能基を容易に還元することが可能です[1]。

〔参考文献〕

1）佐治木弘尚，廣田耕作：有機合成化学協会誌，**59**，109（2001）.

2）Sajiki, H., Hattori, K. and Hirota, K.: *J. Org. Chem.*, **63**, 7990（1998）.

3）Hattori, K., Sajiki, H. and Hirota, K.: *Tetrahedron*, **56**, 8433（2000）.

4）Hattori, K., Sajiki, H. and Hirota, K.: *Tetrahedron Lett.*, **41**, 5711（2000）.

5）Sajiki, H., Hattori, K. and Hirota, K.: *Chem. Eur. J.*, **6**, 2200（2000）.

6）Sajiki, H., Hattori, K. and Hirota, K.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1**, 4043（1998）.

コード No.	品 名	規 格	容量	希望納入価格(円)
163-21441	Palladium-Activated Carbon Ethylenediamine Complex（Pd 3.5～6.5%）	有機合成用	1 g	4,000
169-21443			5 g	13,500

調液の手間不要!! 酸-アセトニトリル溶液

Wako

0.1vol%酢酸-アセトニトリル
0.1vol%ぎ酸-アセトニトリル
0.1vol%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル

HPLC分析における溶媒として、酸を添加したアセトニトリルが頻繁に用いられます。特に、LC/MSの普及により、酢酸・ぎ酸を使用するケースが増えました。本品は、LC/MS用アセトニトリルに高純度の酸を混合調製した製品です。調液後、UVや蛍光物質を保証しており、HPLC分析用溶媒として安心してご使用いただけます。

特　長

- 調液の手間がかからない
- 充実した品質保証
- UV、蛍光物質を保証
- 酢酸－アセトニトリル、ぎ酸－アセトニトリルはLC/MS適合性試験も実施

	コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
NEW	011-20551 017-20553	0.1vol% Acetic Acid-Acetonitrile	LC/MS用	1ℓ 3ℓ	5,700 13,800
NEW	062-04721 068-04723	0.1vol% Formic Acid-Acetonitrile	LC/MS用	1ℓ 3ℓ	5,700 13,800
NEW	206-16451 202-16453	0.1vol% Trifluoroacetic Acid-Acetonitrile	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ 3ℓ	6,400 16,000

関連商品

コード No.	品 名	内容(mℓ)	規 格	容量	希望納入価格(円)
010-19911	Acetonitrile Solution(1+9)	$CH_3CN:H_2O$=1:9	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	4,000
017-19921	Acetonitrile Solution(2+8)	$CH_3CN:H_2O$=2:8	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	4,500
014-19931	Acetonitrile Solution(3+7)	$CH_3CN:H_2O$=3:7	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	4,500
011-19941	Acetonitrile Solution(4+6)	$CH_3CN:H_2O$=4:6	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	5,000
018-19951	Acetonitrile Solution(5+5)	$CH_3CN:H_2O$=5:5	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	5,000
015-19961	Acetonitrile Solution(6+4)	$CH_3CN:H_2O$=6:4	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	5,500
012-19971	Acetonitrile Solution(7+3)	$CH_3CN:H_2O$=7:3	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	5,500
019-19981	Acetonitrile Solution(8+2)	$CH_3CN:H_2O$=8:2	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	6,000
016-19991	Acetonitrile Solution(9+1)	$CH_3CN:H_2O$=9:1	高速液体クロマトグラフ用	1ℓ	6,000

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
214-01301 210-01303	Ultrapure Water	LC/MS用	1ℓ 3ℓ	1,600 3,000
016-19854 012-19851 018-19853	Acetonitrile	LC/MS用	100mℓ 1ℓ 3ℓ	1,900 5,600 13,000
132-14524 138-14521 134-14523	Methanol	LC/MS用	100mℓ 1ℓ 3ℓ	1,050 1,600 3,450
018-20061	Acetic Acid	LC/MS用	50mℓ	5,500
067-04531	Formic Acid	LC/MS用	50mℓ	9,000

エンドファイトトキシン試験用

Wako

酒石酸エルゴバリン
ロリトレム B

エンドファイトトキシンとは主にイネ科牧草などの植物に寄生ないし共生する真菌（エンドファイト）が産生する神経毒素です。

牛、馬がエンドファイトトキシンに汚染された輸入牧草を摂取すると、BSE症状に似た中毒を起こし、筋肉の攣縮、起立障害、痙攣などの症状を引き起こすことが知られています。これは細胞内外の電位差の保持の役割をするイオンチャンネルが阻害されるためと考えられています。また、エンドファイトトキシンは血液脳関門を通過する可能性が高いと考えられています。

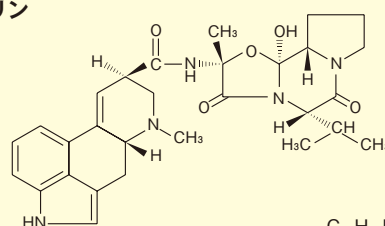
エルゴバリンとロリトレムBは、公定法として「飼料分析法」に測定法と規制値が決められています。現在、エンドファイトトキシンとして知られているのはこの2品目で、規制値は下記の通りです。

規 制 値

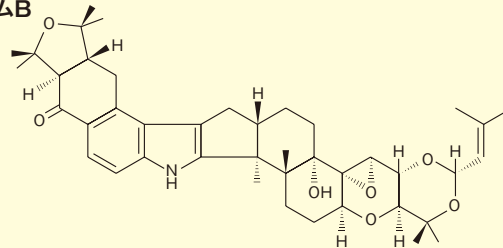
エルゴバリン：500ppb以下
ロリトレム B：1,800ppb以下

測 定 法　HPLC／蛍光検出

エルゴバリン：励起波長 315nm　蛍光波長 415nm
ロリトレム B：励起波長 268nm　蛍光波長 440nm

エルゴバリン

$C_{29}H_{35}N_5O_5$=533.62

（057-07391酒石酸エルゴバリンは酒石酸を介したエルゴバリンの２量体）

ロリトレムB

$C_{42}H_{55}NO_7$=685.89

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
057-07391	Ergovaline Tartrate	エンドファイトトキシン試験用	1mg	30,000
122-05071	Lolitrem B	エンドファイトトキシン試験用	1.3μg	40,000

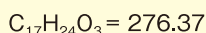
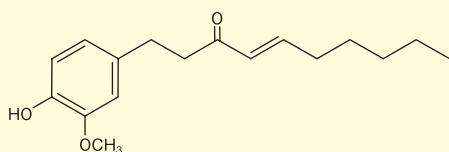
日本薬局方適合生薬有効成分（標品） Wako

[6]-ショーガオール

カンキョウ（ショウガ）に含有される有効成分です。

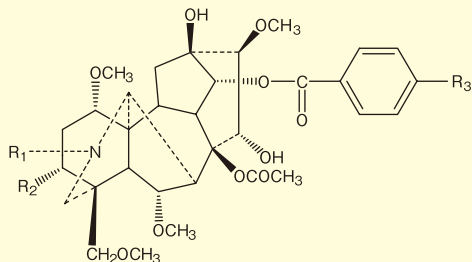
起　　源：*Zingiber officinale* Roscoe（*Zingiberaceae*）

CAS No.：555-66-8

$C_{17}H_{24}O_3$ = 276.37

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
199-14111	[6]-Shogaol	局方生薬試験用（薄層クロマトグラフ用）	5mg	17,000

ブシジエステルアルカロイド混合標準物質

ブシ末〔Powdered Processed Aconite Root〕（ハナトリカブトやオクトリカブトなど）に含有される有効成分です。

起　　源：*Aconitum carmichaeli* Debeaux
Aconitum japonicum Thunberg（*Ranunculaceae*）

	R_1	R_2	R_3
aconitine	C_2H_5	OH	H
jesaconitine	C_2H_5	OH	OCH_3
mesaconitine	CH_3	OH	H
hypaconitine	CH_3	H	H

本品はアコニチン0.05mg、ジェサコニチン0.05mg、メサコニチン0.1mg、ヒパコニチン0.15mgを含む混合標品です。

第十四改正日本薬局方 第二追補 解説書 一般試験法 試薬・試液のブシジエステルアルカロイド混合標準溶液、純度試験用の混合標準溶液の調製に使用されます。使用時、りん酸緩衝液・アセトニトリル混液（1：1）5mℓ に正確に溶解してご使用下さい。

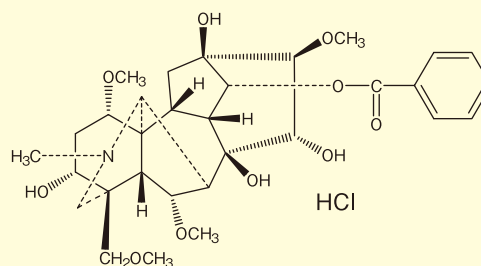
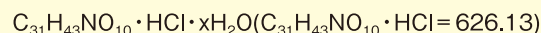
コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
012-20581	Aconitum Diester Alkaloids Standard	局方生薬試験用（純度試験用）	0.35mg	15,000

塩酸ベンゾイルメサコニン

ブシ（ハナトリカブトやオクトリカブトなど）に含有される有効成分です。

起　　源：*Aconitum carmichaeli* Debeaux
Aconitum japonicum Thunberg（*Ranunculaceae*）

CAS No.：126266-38-4

$C_{31}H_{43}NO_{10}\cdot HCl\cdot xH_2O(C_{31}H_{43}NO_{10}\cdot HCl = 626.13)$

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
022-15491	Benzoylmesaconine Hydrochloride	局方生薬試験用（薄層クロマトグラフ用）	5mg	16,000

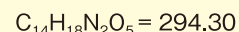
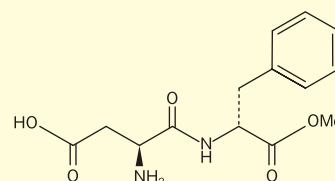
アスパルテームの分析にお使い下さい Wako

L-α-アスパルチル-D-フェニルアラニンメチルエステル

食品添加物に収載されている「アスパルテーム」の試験項目にある、『他の光学異性体』を試験する際の対象物質としてお使いいただけます。

規　　格

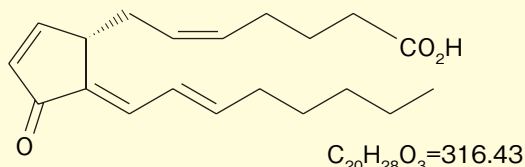
含量(HPLC)：95.0%以上
水　溶　状：試験適合

$C_{14}H_{18}N_2O_5$ = 294.30

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
010-20401 016-20403	L-α-Aspartyl-D-phenylalanine Methyl Ester	生化学用	200mg 1g	15,000 50,000

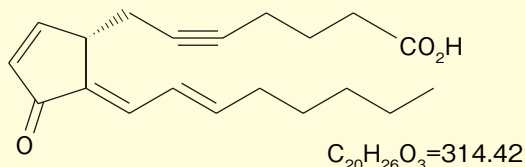
プロスタグランジン J_2 誘導体　Wako

プロスタグランジン（PG）は、アラキドン酸のようなエイコサポリエン酸からシクロオキシゲナーゼ（COX）の作用により動物組織で合成される一群の生理活性物質です。細胞内情報伝達機構や生理調整機能に関与するメディエーターとして注目されています。

なかでもプロスタグランジンJ_2（PGJ_2）類は、①抗炎症作用や抗腫瘍作用などを有すること、②PPARγなどの核内レセプターのリガンドとして作用すること、③そして、タンパク質中のシステイン残基と共有結合して標的タンパク質の機能を制御することなどが報告されています。

■0.01 mol/ℓ　15-デオキシ-$\Delta^{12,14}$-プロスタグランジンJ_2・エタノール溶液

CO₂H　O

$C_{20}H_{28}O_3$=316.43

■0.01 mol/ℓ　15-デオキシ-$\Delta^{12,14}$-プロスタグランジンJ_2、アセチレンアナログ・エタノール溶液

CO₂H　O

$C_{20}H_{26}O_3$=314.42

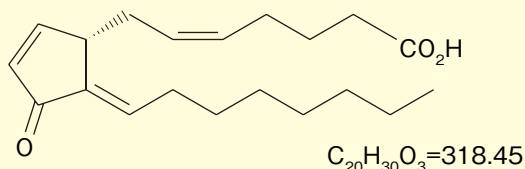
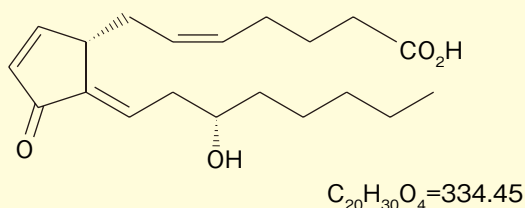
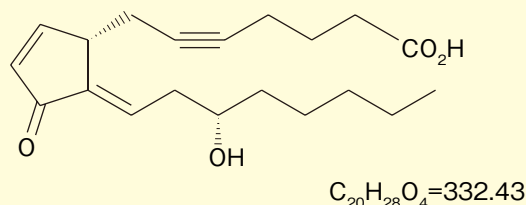
■0.01 mol/ℓ　15-デオキシ-Δ^{12}-プロスタグランジンJ_2・エタノール溶液

CO₂H　O

$C_{20}H_{30}O_3$=318.45

■0.01 mol/ℓ　Δ^{12}-プロスタグランジンJ_2・エタノール溶液

CO₂H　O　OH

$C_{20}H_{30}O_4$=334.45

■0.01 mol/ℓ　Δ^{12}-プロスタグランジンJ_2、アセチレンアナログ・エタノール溶液

保存条件　不活性ガス封入・－20℃・遮光保存

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
047-29691	0.01mol/ℓ 15-Deoxy-$\Delta^{12,14}$-prostaglandin J_2 ·Ethanol Solution	細胞生物学用	1mg	近日発売
040-29701	0.01mol/ℓ 15-Deoxy-$\Delta^{12,14}$-prostaglandin J_2, Acetylene Analog·Ethanol Solution	細胞生物学用	500μg	近日発売
047-29711	0.01mol/ℓ 15-Deoxy-Δ^{12}-prostaglandin J_2·Ethanol Solution	細胞生物学用	500μg	近日発売
167-22201	0.01mol/ℓ Δ^{12}-Prostaglandin J_2·Ethanol Solution	細胞生物学用	500μg	近日発売
162-22251	0.01mol/ℓ Δ^{12}-Prostaglandin J_2, Acetylene Analog ·Ethanol Solution	細胞生物学用	500μg	近日発売

ポリアミンのアセチル体及びジアセチル体　Wako

N^1,N^8-ジアセチルスペルミジン
N^1,N^{12}-ジアセチルスペルミン

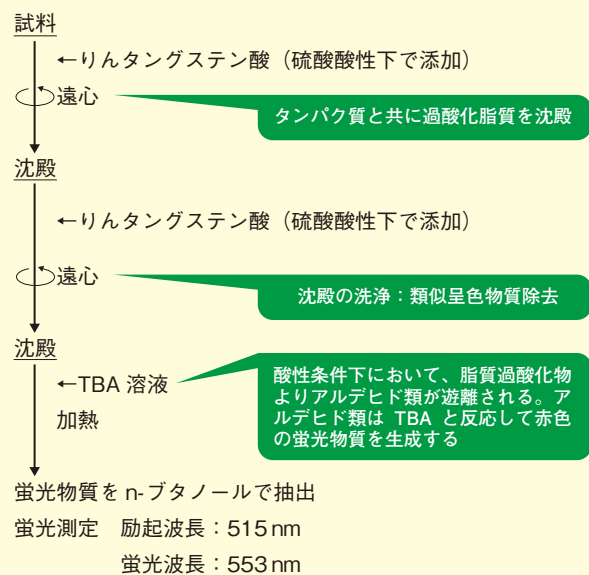
生体内には20種類以上のポリアミンが存在し、その生体内分布は、がん組織などの活発に増殖する部位に多いことが知られています。そのような部位ではポリアミン代謝も活発で、がん患者において尿中ポリアミン排泄量が増加することが報告されています。特に代表的なポリアミンのスペルミジンとスペルミンのジアセチル体であるN^1, N^8-ジアセチルスペルミジン及びN^1, N^{12}-ジアセチルスペルミンは、尿中排泄量の増加が顕著であると報告されています。

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
010-20381	N^1-Acetylspermidine *n*-Hydrochloride	細胞生物学用	40mg	34,000
017-20411	N^1,N^8-Diacetylspermidine	細胞生物学用	40mg	36,000
014-20421	N^1-Acetylspermine *n*-Hydrochloride	細胞生物学用	40mg	38,000
045-29511	N^1,N^{12}-Diacetylspermin *n*-Hydrochloride	細胞生物学用	40mg	42,000

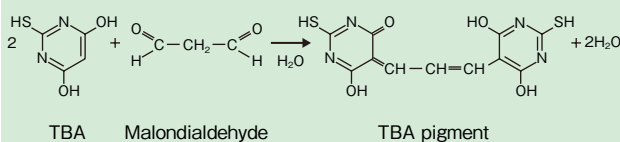
血中過酸化脂質の定量に最適です　Wako

ラボアッセイ^{TM} 過酸化脂質(TBARS)

生体内に存在する脂質は、活性酸素などの作用を受けて酸化され、過酸化脂質を生じることが知られており、動脈硬化、脳血管障害、高脂血症、肝臓疾患、糖尿病などの疾患や老化との関連が注目されています。本キットは、血液中の過酸化脂質とチオバルビツール酸（TBA）の反応により生成した色素を蛍光測定することにより、過酸化脂質を定量することができます。

測定手順

同時に操作した標準液の蛍光強度を比較することにより、試料中の過酸化脂質濃度をマロンジアルデヒド濃度として求める

$$2\ \text{TBA} + \text{Malondialdehyde} \xrightarrow{H_2O} \text{TBA pigment} + 2H_2O$$

TBA　Malondialdehyde　TBA pigment

感　度

- 精製水を試料として操作した場合の蛍光強度は0～23
- 標準液を試料として操作した場合の蛍光強度は、60～100（マロンジアルデヒド 21 nmol/mℓ に相当）

再現性

同一検体を５回以上同時に測定するとき、蛍光強度のCV値は10％以下

測定範囲

過酸化脂質濃度　0～40 nmol/mℓ

キット内容

生理食塩液	55 mℓ × 1 本
N/ 12 硫酸溶液	330 mℓ × 1 本
10％ りんタングステン酸水溶液	45 mℓ × 1 本
TBA 試薬	60 mℓ × 1 本
n-ブタノール	300 mℓ × 1 本
標準液（1,1,3,3-テトラエトキシプロパン 5 nmol/mℓ）	10 mℓ × 1 本

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
298-62901	Lab Assay^{TM} TBARS	細胞生物学用	50回用	45,000

本キットは研究用試薬ですので、診断用に供することはできません。

F-アクチン染色用プローブ　Wako

ファロイジン，ローダミン X 結合

二環式ペプチドであるファロイジンは、細胞骨格を構成するF-アクチンに特異的に結合することが知られています。

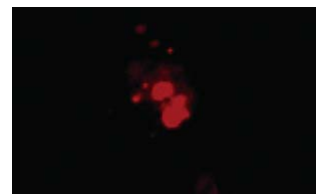
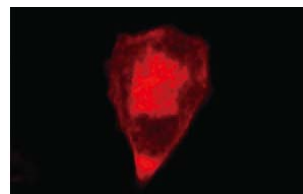
本品はファロイジンと赤色蛍光試薬ローダミン誘導体とを結合させたアクチン染色用プローブです。従来のローダミン-ファロイジンに比べて鮮明に染色できます。

特　長

- 強い蛍光強度
- 低いバックグラウンド

データ

当社製品

他社製品（ローダミン-ファロイジン）

同一条件でマクロファージの染色を行った。当社製品の方がマクロファージが明瞭に染まった

測定波長

励起波長：556 nm　蛍光波長：574 nm

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
165-21641	Phalloidin, Rhodamine X conjugated	細胞生物学用	300回用	50,000

りん酸化 MAPKs の測定に

R&D SYSTEMS

ヒト Proteome Profiler™ ホスホ -MAPK アレイキット

MAPキナーゼ（MAPK）カスケードは細胞外からのさまざまな刺激情報を、カスケードを構成するシグナル伝達因子のりん酸化を行うことで核へと伝達するシグナル伝達経路です。本品は、これらりん酸化MAPキナーゼ群を検出するアレイキットです。メンブレン上に各抗体が固定化されており、試料中の各りん酸化MAPキナーゼ群が特異的に結合し、HRP標識ストレプトアビジンによって検出できます（下記抗体マップ参照）。まとめて検出できるので個々のシグナル伝達因子ごとに免疫沈降/ウェスタンブロット法を行う必要がなく、非常に簡便です。

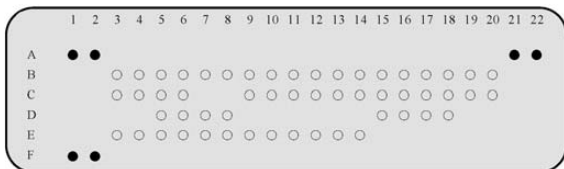
特　長

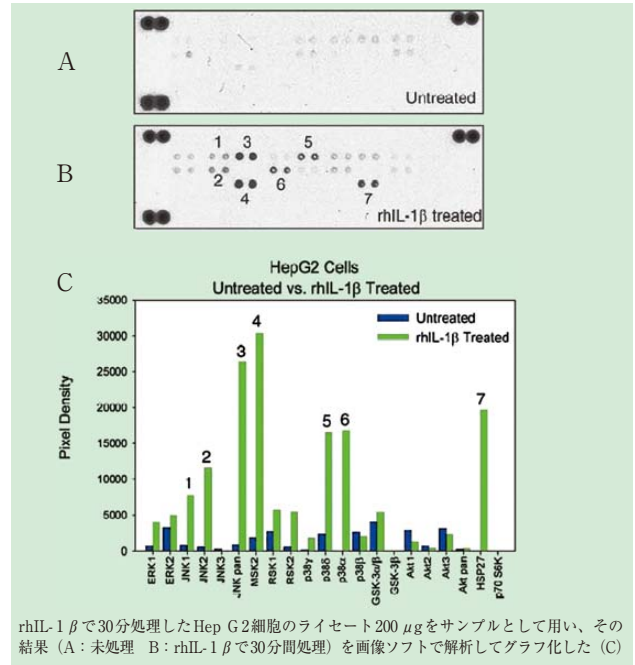
- 抗体特異性が高い
- 5時間で定量できる
- 少量サンプルで解析できる（250 μg以下）
- 免疫沈降/ウェスタンブロット法の感度に匹敵

キット内容

- Phospho MAPK Array　4枚
- Array Buffer（3種類）　各 21 mℓ × 3本
- Lysis Buffer　21 mℓ × 1本
- Wash Buffer（25倍濃縮液）　21 mℓ × 2本
- Anti-Phospho-MAPK Detection Antibody Cocktail　1本
- Streptavidin-HRP　1本
- 4-Well Rectangular multi-dish　1枚
- Transparency Overlay Template　1枚

＊**WesternGlo™化学発光検出基質**（557-72171）との併用をおすすめします。

捕獲抗体マップ

位　置	ターゲット	位　置	ターゲット	位　置	ターゲット
A1　A2	Control (+)	B19　B20	Akt2	D7　D8	MSK2
A21　A22	Control (+)	C3　C4	ERK2	D15　D16	HSP27
B3　B4	ERK1	C5　C6	JNK2	D17　D18	p70 S6 Kinase
B5　B6	JNK1	C9　C10	p38α	E3　E4	Control (-)
B7　B8	JNK pan	C11　C12	p38β	E5　E6	Control (-)
B9　B10	p38γ	C13　C14	RSK2	E7　E8	Control (-)
B11　B12	p38δ	C15　C16	GSK-3β	E9　E10	Control (-)
B13　B14	RSK1	C17　C18	Akt3	E11　E12	Control (-)
B15　B16	GSK-3α/β	C19　C20	Akt pan	E13　E14	Control (-)
B17　B18	Akt1	D5　D6	JNK3	F1　F2	Control (+)

解 析 例

rhIL-1βで30分処理したHep G2細胞のライセート200 μgをサンプルとして用い、その結果（A：未処理　B：rhIL-1βで30分間処理）を画像ソフトで解析してグラフ化した（C）

コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
554-81471	ARY002	Proteome Profiler™ Human Phospho-MAPK Array Kit	1 Kit	104,000

化学発光基質

R&D SYSTEMS

WesternGlo™ 化学発光検出基質

本品はHRP標識を利用したアッセイ系において使用することを目的とした化学発光検出用試薬です。A液とB液を等量ずつ混合してご使用下さい。本品1セットでメンブレン（8.5 cm × 6.5 cm）50枚以上（面積にして2700 cm²以上）に使用できます。ウェスタンブロット関連製品と併せてご使用下さい。

検出限界　pg オーダー　　**持続限界**　最大2時間

使用方法

A液とB液を必要量だけ等量ずつ混合して使用する

＊混合後は室温で1時間は安定であるが、なるべく20分以内に使用する

内　容

- WesternGlo™ A液　100 mℓ × 1本
- WesternGlo™ B液　100 mℓ × 1本

コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
557-72171	AR004	WesternGlo™ Chemiluminescent Detection Standard	1 PK	21,000

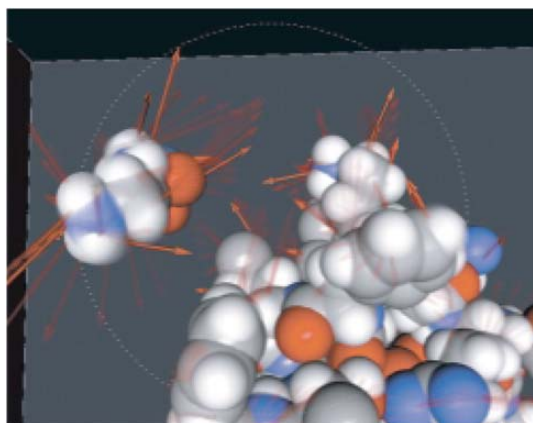
ダイナミック分子モデリングシステム　INFOGRAM
eMD² – Empowered Molecular Design/Dynamics –

eMD²（エムディースクエア）は、分子動力学シミュレーション（MD）計算と分子操作をリアルタイムに連携させた新しいタイプの分子モデリングソフトです。ユーザーフレンドリーなインターフェイスを通じ、通常のデスクトップコンピューター上で「分子間相互作用を実感しながら、"動く分子を使った分子モデリング"」が可能となりました。

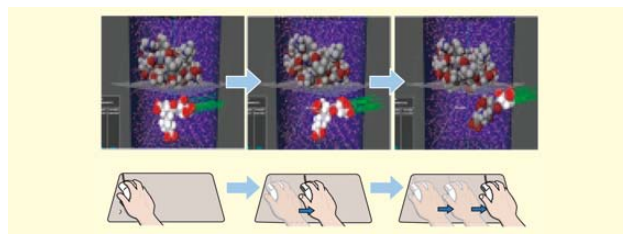
「よりリアルに、よりパワフルに、そしてより直感的に。」
これが我々の目指す、分子モデリングソフトの新しいカタチです。

力を感じる

eMD²ではユーザーによる分子操作中でも常にMD計算がリアルタイムに実行されています。このシミュレーションでは、各々の原子間に働く「力」が計算されています。ただ動いている分子を操作するだけでなく、この原子・分子にかかる力を実感することで、よりリアルな分子間相互作用の検証が可能です。eMD²では、ユーザー設定によって、原子・分子が感じている力を、リアルタイムに表示します。原子・分子にかかる力の向きと大きさを直感的に認識することで、これまでの分子モデリングソフトでは得られなかった新しい視点・インスピレーションが生まれるでしょう。

「分子の鼓動があなたの想像を刺激する」
eMD²は、リアルな分子モデリングを提供します。

動く分子をマニピュレーション

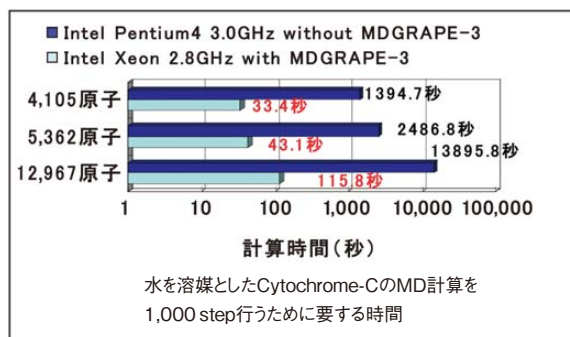
現実に存在する分子は、分子振動・拡散など常に動いています。これらの分子ダイナミックスを考慮しなければ、現実に即した分子モデリングはできません。創薬開発におけるターゲットタンパク質薬剤分子のドッキングシミュレーションでは、互いの分子間相互作用が考慮されなければなりません。現実の世界では、ターゲットタンパク質や薬剤分子の構造はダイナミックに変化しています。これらがドッキングすることで互いの立体構造も変化するでしょう。これらすべての動きを考慮した分子モデリングによって、初めてリアリスティックな状態を直感的に把握できます。

「動いている分子を触って動かす」
これが、これからの新しい分子モデリングです。

超高速 MD 計算（オプション）

独立行政法人理化学研究所で開発されたMDGRAPE-3は、２原子間のクーロン相互作用やレナードジョーンズポテンシャルなどを高速に計算するPC拡張ボードです。これをPCに搭載することで、通常のPCでも強力な分子動力学計算パワーが得られます。

eMD²はこのボードとも連携可能であり、大規模なMD計算も高速に実行できます。eMD²とMDGRAPE-3を連携させた場合、MDGRAPE-3を使用しなかった場合と比べて、原子数12,967個の場合で154倍にもなります。

これは５ヶ月かかった計算が１日で終わることを意味します。

水を溶媒としたCytochrome-CのMD計算を
1,000 step行うために要する時間

コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
303-17151	MD-AC1Std	eMD² スタンダード アカデミック版	1セット	500,000
300-17161	MD-CP1Std	eMD² スタンダード コーポレート版	1セット	1,500,000
634-08061	―	MDGRAPE-3 PCI-X アカデミック版	1枚	1,200,000
―	―	MDGRAPE-3 PCI-X コーポレート版	1枚	照 会

このソフトウェアは独立行政法人理化学研究所と株式会社インフォグラムが共同開発したものです。

染色体異常 CGH 解析

BAC アレイ解析サービス

BACアレイとは、ヒトゲノムDNA断片をクローニング化したBAC（バクテリア人工染色体）クローンをスライドガラス上にスポットしたアレイで、染色体の異常を検出できます。

当社では、2006年4月より、BACアレイを用いたComparative genomic hybridization（CGH）解析受託サービスを開始しました。がん細胞などで生じる染色体コピー数の増加・欠失といった染色体異常のゲノムワイドなプロファイリングを行うサービスです。

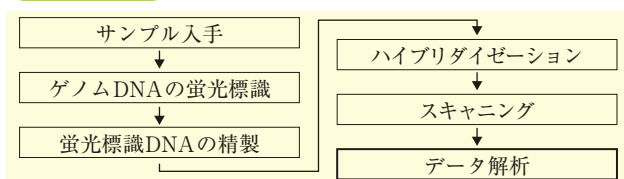
特　長

- Macrogen社 MAC Array™* を使用
- 約２週間で結果をご提供
- 独自の蛍光色素と独自の技術で、再現性の高いデータを提供
- トレーニングを受けた専任の研究者が対応
- オリゴ DNA を用いた CGH 解析に比べ、微細な変化をとらえることが可能

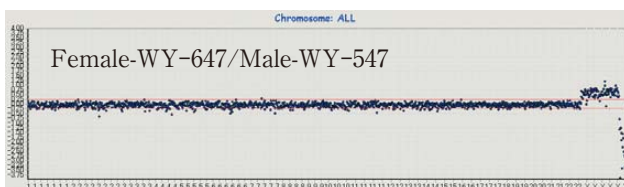
＊MAC Array™ は、韓国ヒトゲノムプロジェクトで作成された BAC クローン（DNA 断片）をスライドガラス上にスポットしたアレイで、スポットされている BAC クローンは FISH 法によって遺伝子座が確定されています。

応用用途

- がん関連遺伝子の探索
- がんの診断の基礎研究
- がんの進展の研究
- 悪性化に関与する染色体異常領域の探索
- 診断マーカーの探索

解析の流れ

解析結果

以下のデータをご報告します。

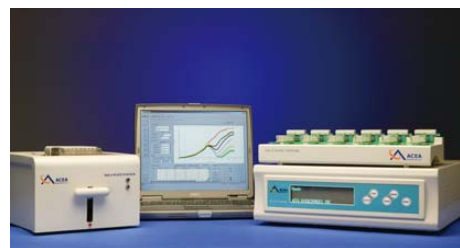
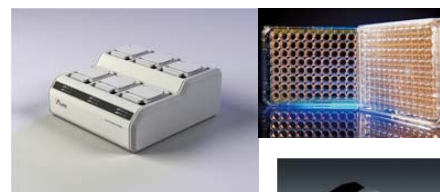
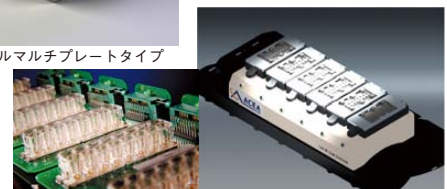
- 画像データ（TIFF）
- WY-547-WY-647 マージデータ（BMP）
- 解析 raw データ（Excel、Text）
- Log2 スキャタープロット（BMP）

データは CD-R で納品します。

納　期　サンプル受取り後、10 営業日
（サンプルが多数の場合はご照会下さい）

価　格　照会

お問合せ先：BACアレイ解析サービステクニカル窓口
E-mail　bacarray@wako-chem.co.jp

非標識で細胞数・細胞形態変化をリアルタイム 自動測定

リアルタイム細胞計測システム【RT-CES™】

細胞アッセイは標的細胞に対する薬剤やリガンドの有効性、選択性、透過性、溶解性、安定性、作用機序などを理解する上で非常に重要です。多くの細胞アッセイはエンドポイント測定で行われており、一部の情報しか得られず、細胞標識や細胞破壊を伴います。実際の細胞は生きており、生物学的細胞プロセスはダイナミックであるため、このような一面的な測定には限界があります。細胞プロセスを十分に理解し、測定するためには、薬剤処理や成長因子による刺激に対するダイナミックな細胞反応のカイネティックデータを提供できる非侵襲測定システムも必要です。それがRT-CESシステムです。既に全米の多くの大手製薬メーカーや公的機関において実績があり、多様な細胞アッセイに有効に使われています。現在16ウェルプレートタイプと96ウェルプレートタイプがありますが、さらに96ウェルプレートを同時に6枚測定できるマルチプレートタイプ及び細胞浸潤を測定できるCIM 16ウェルタイプが加わりました。

96 ウェルマルチプレートタイプ

CIM16 ウェルタイプ

応 用 例

- 細胞増殖・細胞毒性の測定
- 細胞接着・細胞伸展の測定
- 細胞でのレセプターリガンド相互作用の測定
  GPCR、受容体型チロシンキナーゼ、IgEレセプター、
  EGFレセプター など
- 内皮細胞バリアー機能の測定
- NK細胞の細胞傷害活性の測定

※価格はお問合せ下さい

核酸電気泳動ゲル染色剤

GelRed™ 核酸ゲル染色液（×10,000, DMF溶液）

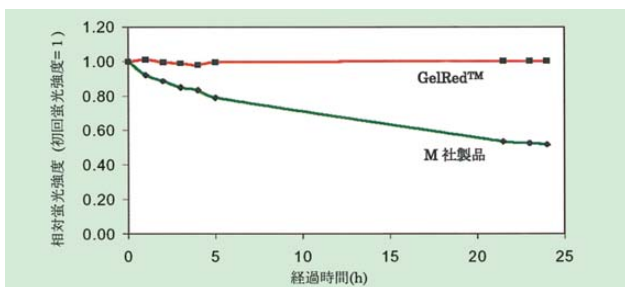
本品は核酸電気泳動において、ゲル内の核酸を染色することを目的としています。他ブランド品に比べ、安定な蛍光が高感度で得られます。また、一般的に使われているエチジウムブロミド（EtBr）と同じ方法で使えるため、大変扱いやすい製品です。

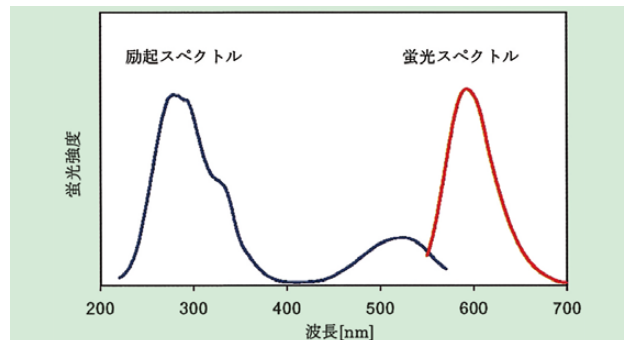
特　　長

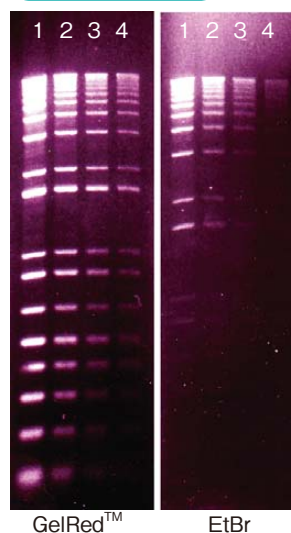
- 高感度で光安定性に優れる
- 毒性が低い
- 汎用性が高い
- 専用フィルターなどは不要

	GelRed™	EtBr	M社製品
検出物質	dsDNA/ssDNA/RNA		
ゲルの種類	アガロースゲル / ポリアクリルアミドゲル		
染色方法	プレステイン法 / ポストステイン法両方とも可能*		ポストステイン法のみ
退色速度	遅い	速い	速い
毒　　性	低い	高い	低い

*ポリアクリルアミドゲルではプレステイン法はお奨めできません。

蛍光強度の経時変化

1×PBS中にて測定。GelRed™、M社製品それぞれについて蛍光強度の経時変化を測定し、プロットした。

励起・蛍光スペクトル

DNA存在下、1×PBS中にて測定。
励起波長：300 nm付近　最大蛍光波長：595 nm付近

EtBrとの比較

異なる量のDNAを1％アガロースゲルで電気泳動後、GelRed™及びEtBrで染色し、検出感度を比較した。特に低分子領域において検出感度の差が顕著に現れている。

lane 1：200 ng
lane 2：100 ng
lane 3：　50 ng
lane 4：　25 ng

プロトコル例

■プレステイン法

1．融解した50 mℓのアガロース溶液に本品5 μℓを加え、よく撹拌させゲルを作成する（融解前に添加してもよい）。
2．電気泳動後、標準的なトランスイルミネーターを使用して写真撮影する。

■ポストステイン法

1．本品15 μℓを50 mℓの蒸留水もしくは泳動バッファーに加える。
2．電気泳動後のゲルを、この溶液内で30分程振とうする。
3．標準的なトランスイルミネーターを使用して写真撮影する。

コードNo.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
559-78731	41000	GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain 10,000x in DMF	0.5mℓ	22,000

フリートリッヒ・ヴィルヘルム・オストヴァルト（1853.9.2～1932.4.4）

科学史家　島尾　永康

生立ち・修業時代（1853～1881）

オストヴァルトは当時ロシア領だったラトヴィアの首都リガで、３人兄弟の次男として生まれた。父は桶屋の親方、母はパン屋の親方の娘で、両親はいずれもドイツ系入植者の子孫である。ギムナジウムのころ、すでにオストヴァルトの興味の幅は広く、物理と化学のみならず、文学、音楽、絵画に及んだ。手作りで物を作るのが好きで、家に工作室と実験室を作った。父はリガ高等工業学校に入れたいと思ったが、オストヴァルトはドルパト（現、タルテュ）大学化学科に入学した（1872）。

ドルパト大学はドイツの大学ほど有機化学一辺倒ではなかったので、平衡論や反応速度に興味をもつよう指導された。卒論研究は、「塩化ビスマスの加水分解における水の質量作用」であり、これが最初の出版論文となった。この研究中、グルドベルクとヴァーゲの質量作用の研究（1866）を見つけた。かれは質量作用の法則の意味を理解し、それを利用し、広めた最初の化学者の一人である。物理的性質の測定から反応を研究できるという考えに思い至り、溶液の反応に伴う密度の変化を精密に測定し、「親和力についての容量化学的研究」で修士号を取得した。さらに反応に伴う屈折率の変化の測定を加えた、「容量化学的および光学化学的研究」（1878）が博士論文となった。ガラス細工、木工、金工の器用さを身につけ、仕事振りは素早かった。生涯、高価な装置を嫌い、大抵の測定装置を手作りしたのはこのころからの習慣である。在外研究奨学金に応募したが、不合格だった。合格していればドイツへ行ったであろう。ドイツへ行けばおそらく全盛時代の有機化学に魅せられ、有機化学者になったであろう。ラトヴィアに留まったおかげで物理化学者になったと、後年、『自伝』で語っている。リガの外科医の娘、ヘレーネ・フォン・フライヘアーと結婚し、５人の子供をもうけた。その一人、ヴォルフガングはコロイド化学者となった。

図１．オストヴァルト。1904年、アントン・クラムロート画、パステル画。87×44cm。

リガ時代（1881～1887）

高等工業学校の化学教授となった。教育熱心だった。化学科の学生が急増したので、実験室の新築計画を任され、その参考とするため初めてドイツに旅し、16ケ所の大学の実験室を歴訪し、多くの著名な化学者たちと会見した。150人用の実験室を造ったが（1885)、実習生は193人になり、翌年は210人になった。この時期かれが考案した恒温槽は、世界中の実験室に普及した。化学熱力学の研究と電気化学の研究に打ち込んだ。リガ時代の二大著作業績のひとつは、過去50年間の物理と化学の雑誌の文献を体系的に調べた結果にもとづいた、野心的な、1764頁の『一般化学教科書』、２巻（1885、1887）である。オストヴァルトは物理化学よりも一般化学という名称を好んだ。

図２．オストヴァルトの署名。

オストヴァルトには物理化学の先駆的研究者をいちはやく見抜く眼力があった。グルドベルクとヴァーゲの質量作用の法則、アレニウスの溶液の電離理論、ファント・ホフの著書、『化学動力学』と溶液理論、ネルンストのヴォルタ電池の起電力の研究などがそれである。無名のギッブスとその相律の価値を誰よりも先に認めたのもかれである。オストヴァルトは外国の、孤立した物理化学の研究者にわざわざ会いに出かけた。アレニウスとは生涯の友となった。会ってみるとグルドベルクは数学者、ヴァーゲは化学者だった。

リガ時代の二大著作業績の今ひとつは『物理化学誌』の創刊である（1887)。知名度も十分でなく、弱冠34歳で新分野の学術雑誌を創刊するのであるから、ル・シャトリエら22人の国際的に著名な化学者の支持を取り付けた。このときファント・ホフは、実際に編集はしないが、共同編集者にしてもらいたいという条件をつけた（オストヴァルト、『自伝』)。『一般化学教科書』と同様、この雑誌も初めから成功した。オストヴァルトは有機酸の電気伝導度を測定していたが、何千という有機酸は商品としては入手できず、このためドイツへ有機酸の托鉢の旅に出た。その途上でライプツィヒ大学教授への招聘の確定を知った。

ライプツィヒ時代（1887～1906）

ライプツィヒ大学の物理化学の教授となったのは、オストヴァルトの生涯の最も重要な出来事であった（1887)。それは６年前に設置された、世界で唯一の物理化学の教授職で、初代は物理学者ヴィーデマンである。ランドルト、ヴィンクラー、ファント・ホフが断ったあとにオストヴァルトが任命されたのである。ラトヴィア出身で、ド

イツの大学を出ていないのがハンディだったが、ヴィスリチェヌスと実験心理学の創始者ヴントが支持した。就任講演に対しても教授たちの間には、リガからきたロシア人、古典重視のドイツのギムナジウム出身でなく、ドイツの大学出身でない人間に、まともな話ができるかという偏見があった。かれは「エネルギーとその変化」という演題で、原子論の代替的立場としてエネルゲティクを提唱した（図1、2）。

大学ではもともと農業化学のために建てられた、旧式の、設備の悪い農学教室を、農学・畜産学の教授と共同使用しなければならなかった。最初の助手に任命したのがネルンストである。それまでコールラウシュやボルツマンについて物理学の研究をしていたネルンストにとっては物理化学者になる重大な転回点となった。オストヴァルトの研究指導を受ける学生は、初年度は２人、二年目は１人という状態だった。しかしまもなく30人に増え、英

GRUNDLINIEN
ANORGANISCHEN CHEMIE.

近世
無機化學

獨逸國ライプチヒ大學教授 オストワルド 原著
東京帝國大學理科大學教授 理學博士 池田菊苗 譯

東京開成館 發行

図４．オストヴァルト著、池田菊苗訳註、『近世無機化学』、明治37年（1904）、東京開成館、大阪府立図書館蔵。縦書き、１冊本で本文1592頁、序、目次、索引が83頁の大著。

図３．大幸勇吉（オストヴァルト研究室への留学時、1900年）。

米人がドイツ人より多いときもあった。1903年までにオストヴァルトに師事したアメリカ人は30人に上る。オストヴァルト研究室は多くの院生をひきつけ、国際的な物理化学センターとなり、門下から世界中の60～70人の大学教授が出た。

アレニウスとの交流の影響で電気化学的研究をおこなうようになり、電極における物質の酸化と還元、溶液の電気伝導度などを研究した。電気化学会を設立して、その会長となり、『電気化学誌』を創刊したが（1894）、電気化学以外の論文も掲載できるように、電気化学会を、かなりの反対を押し切って、「応用物理化学・ドイツ・ブンゼン協会」というオストヴァルト好みの大げさな名称に変えた（1898）。「ブンゼン協会」と略称された。

1898年１月３日、約35万マルクを費やした新研究室がリンネ通りに完成した。それまでの名称「第二化学教室」を「物理化学教室」（Physikalisch-chemisches Institut）と改称し、オストヴァルトがディレクター（教室長）となった。触媒の研究を始めたのは新しい研究室になってからである。高温高圧で窒素ガスと水素ガスから鉄線を触媒としてアンモニアを合成した。さらにアンモニアを触媒で酸化して硝酸を作る方法を開発した。この硝酸製造の商業的成功（1906）がノーベル賞指名の要因となっている。

新物理化学教室は順調に滑り出したが、教室長オストヴァルトの体調は順調とはいえなかった。過労のため講義中に倒れ（1893）、夏期ゼメスターを休業した（1896）。驚異的な記憶力も衰えを見せ始めた。上級の学生と研究について語ることが喜びよりも重荷となってきたので、自費で助手2名を雇って委ねた。

新築早々３人の日本人が留学した。まず織田顕次郎が短期滞在し（1898）、その翌年、池田菊苗と大幸勇吉が同時に留学した（10月24日）。大幸はオストヴァルトのおそらく最後の実験研究に立ち会った（図３）。金属クロムを塩酸で溶解するとき発生する水素の圧力の周期的変化の研究であったが、金属クロムが継続入手できなくなって研究は挫折した。「オストヴァルトの興味は物理化学から離れかけていた。この研究の結果はどう処理されたか全く知らない」と大幸は述べている。大幸は、オストヴァルト研究室の若い研究者たち、ブレディヒ、ルター、ボーデンシュタインから次々に指導を受け、さらに1900年９月６日から１年間、ゲッティンゲンのネルンストに師事した。

京都帝國大學教授
理學博士
大幸勇吉著

物理化學講義

中巻

東京
合資會社 冨山房發行

図５．大幸勇吉著、『物理化学講義』、上中下、３巻、縦書き、明治40年（1907）、冨山房、奈良女子大学図書館蔵。物理化学と題した日本最初の書物である。上巻は函数から微分方程式までの数学、中下巻が物理化学。計852頁。図は中巻のタイトル・ページ。

池田は東京帝大の物理化学教授となり（1901～1923）、オストヴァルトの無機化学書（1900）を『近世無機化学』（1904）として訳出した（図４）。織田は京都帝大の物理化学教授となったが（1899～1903）、４年後、病気のため退官したので、応用電気化学教授に就任（1903）していた大幸が物理化学教授に転じた（1904～1927）。かれは日本最初の物理化学と題した書物、『物理化学講義』、３巻、明治40（1907）、を出した。852頁の大著である（図５）。

しかしオストヴァルトの興味は化学から哲学へと移っていた。エネルギーの諸原理をさまざまな分野に適用した諸科学を統合して、それを「自然哲学」として構想した。この演題での講演を物理化学教室、植物学教室、法学講義室と次第に大きい講義室でおこなったが、いずれも超満員だった（1900）。そこで『自然哲学年報』を創刊した。アメリカのセント・ルイスの芸術と科学の国際会議の重要なスピーカーとして招かれたが、部門は化学でなく哲学だった（1904）。翌年の夏学期の化学講義を免除して欲しいと大学に申し出たが、認められなかったので、辞表を出した（1905）。その数週間後、第一回独米交換教授に指名されたので、1906年まで大学教授として留まり、ハーバード大学その他で講義した。オストヴァルト研究室の重要な研究は講義と関連していたので、講義がなくなるのを残念がる人が多く、友人たちは慰留したが、本人は大学が講義を免除してくれたら留まるという。化学と哲学のいずれを取るかは本人次第というのが大学の態度で、本人は哲学を取って引退した。このころのドイツの大学のディレクターには定年はなく、フィッシャーは67歳（1919）で、バイヤーは82歳（1917）でいずれも死ぬまで在職した。オストヴァルトの53歳の引退は異例の早さであり、これについては種々の論議がある。

おびただしい化学教科書の執筆

オストヴァルトほど生涯を通じてたえず、驚くべき速さで次々に化学教科書を書いた人はいない。「大オストヴァルト」と呼ばれた上述の1764頁の大著、『一般化学教科書』、にしりごみする人々も多かったが、623頁の『一般化学概説』（1889）「小オストヴァルト」は、きわめて手ごろで多くの版を重ねた。物理化学実験の教育を重視したオストヴァルトは、『物理化学測定法』（1893）を書いた。これは20世紀を通じて物理化学実験と実験室に大きな影響を与えた。質量作用則にもとづいて酸―塩基指示薬を記述した『分析化学の科学的基礎』（1894）は、ハンガリー語、ポーランド語、フランス語、イタリア語、英語、日本語の各国語に翻訳されて、分析化学の教育に革命をもたらした。さらに『無機化学概要』（1900）と『化学の学校』（1903）を出した。『電気化学、その歴史と教説』（1894～96）も大著である。科学史を重視して『精密科学の古典論文集』（オストヴァルト・クラシカー）を創刊し（1889）、232巻を出した。きわめて個性的な書物、『化学の根本原理――すべての化学教科書への入門書』（1907）では、合理的科学体系の形はとるが、個々の物質の性質にはかかわらない、「物質なき化学」（Chemie ohne Stoffe）を説いた。そして『平易な化学史７講』（1908）を出した。ケンブリッジ大学での表彰では（1904）、オストヴァルトの著作はドイツ的深遠さとフランス的明晰さを併せ持つと評された。

エネルゲティク

オストヴァルトは学生のころから熱力学に興味をもち、とくにギッブスの論文から強い影響を受けた。原子や分子は、エネルギーの作用を説明するための数学的なフィクションにすぎず、宇宙はさまざまな形のエネルギーで形成されており、化学過程はエネルギーの転換であると確信するようになった。リューベックでのドイツ科学者・医師協会大会（1895）では、「科学的物質論の克服」という講演をおこない、全現象を物質と運動に還元する機械論を攻撃し、物質でなくエネルギーこそ宇宙の基本であると強調して原子論を否定した。しかし科学者たちの納得は得られなかった。マックス・プランクはエネルゲティクは形而上学にすぎないと批判し、反原子論者マッハでさえエネルゲティクに異議を唱えた。かつて助手だったネルンストもオストヴァルトに同調せず、原子、分子の重要性を強調した。それでも闘争的なオストヴァルトは一向にへこたれず、なおもロンドンで、原子論に頼ることなく化学結合を説明できると述べた。さらに『エネルギー』（1908）を出版した。しかし1909年、ペランのブラウン運動の研究に接してはじめて、オストヴァルトは原子論に対する公的立場を変え、原子論を受け入れた。それ以後かれの著作の中でのエネルゲティクは社会的、政治的な信条へと変わっていく。たとえばカントの「倫理的命令」を意識して、『エネルギー的命令』を書いた（1912）。「エネルギーを浪費するな。エネルギーをより有益な形に転じるように努めよ」というのが、その基本則である。

「ヴィラ・エネルギー」時代（1906～1932）

ライプツィヒ近郊のグロースボーテン村に、豪壮な邸宅、「ヴィラ・エネルギー」を建てて移り住み（1906）、フリーの科学者としてエネルゲティクを促進した。引退の３年後、触媒、化学平衡、反応速度論の研究に対してノーベル化学賞を受賞した（1909）。化学者

オストヴァルトは、よき教師、独創的な実験家、多作の著述家だったのみならず、精力的な編集者、巧みな組織者として物理化学の誕生と発展の中心人物だった。賞金の半分を使って、各国、各文化の間の懸け橋を意味する、「ブリュッケ」という国際的な知的活動組織を設立し（1911）、全世界の科学者、作家を会員とし、思想と発見を交換して、世界平和に寄与しようとした。しかしこれは早くも第一次大戦で崩壊した。物理化学教室に留学生が多かったことと、国際会議への出席の経験から、エスペラントよりも簡単な、国際共通語、イド、を考案してその普及に努めたが（1907）、これも戦争がおこると科学者たちに顧みられなくなった。

「私が手がけた多くの若者の中から優秀な学者が輩出したので、将来、傑出する人物をどのようにして早期に認知できるかという問い合わせが、日本政府から留学生を通じて寄せられた」、という書き出しで始まるのが、『大科学者たち：天才の生物学的研究』（1909）である。従来の伝記研究でなおざりにされた生物学的条件に重きをおいたので、このような副題をつけたという。創造的研究者はどのようにして生成されるか、創造活動のテンポ、そして創造活動の限界には、一定の法則性があるという認識に立って、大科学者の「心理的伝記」（オストヴァルトの造語）の研究をおこなったものである。デーヴィ、マイヤー、ファラデー、リービッヒ、ジェラール、ヘルムホルツの６人を個別の章で論じたのち、さまざまな観点から大科学者を論じた６つの章が面白いが、なかでも創造活動のテンポの速い科学者をロマン主義者、遅いものを古典主義者と分類したことは有名である。

色彩科学

生涯を通じて趣味として風景画を描き、画材にも大きな関心をもっていたオストヴァルトは、61歳で宿願の色彩の科学的研究に着手したが、戦争中で国外の研究者との交信のないまま独自の色の体系をつくり上げた。すべての色は白色、黒色、純色の３成分の混合とした。この３成分を頂点とする正三角形は等色相三角形である。その白黒辺を軸として垂直に立て、回転してできる複円錐体がオストヴァルト色立体である（図６）。純色としては、黄と藍、赤と青緑の２組の補色対の４色を色相環の基礎として等間隔に配置し、その間に橙、紫、青、黄緑を置いて８色相とし、それらをさらに３色ずつに分けて24色の色相環（図７）を完成した（1920）。中心に対して相対する色相はいずれも補色関係にある。色を表示する色票を文字と数字で記号化した。色立体の上の頂点には白、下の頂点には黒、外周には純色が配置され、中心軸（グレースケール、図７）を通る菱形の垂直断面は、互いに補色をなす２つの等色相三角形からなり、白、黒、純色の混色した色が配置される。色立体によって色彩調和を論じた。かれの百年前にゲーテが画期的な、感覚心理学的『色彩論』を著して、それを自己の最高の業績と言いきったが、かれもその色彩研究を自己の最高の業績と確信した。たしかにオストヴァルト表色系はアメリカのマンセル表色系と並んで、最も普及したカラー・オーダー・システムである。今日、オストヴァルトの名前が最もよく言及されるのは、物理化学でもエネルゲティクでもなく、色彩科学の分野においてである。『自伝』（1926）は３巻、1194頁の大著である。病床につくこと５日で死去。79歳だった。

図６．オストヴァルト色立体。外周の純色には記号がついている。赤の２つの色相を除去して断面を示したものである。

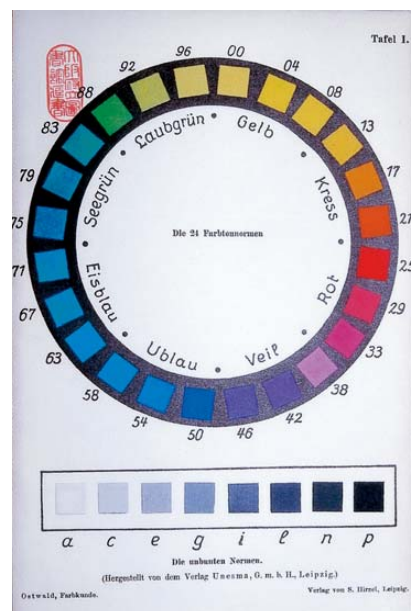



図７．オストヴァルトの24色の色相環（上）。色立体の白黒軸の、音楽のオクターブのアナロジーで８段階になっているグレースケール（下）。（W. Ostwald, *Farbkunde*, 1923）。大阪府立図書館蔵。この書物の図版の色票はすべて印刷したものではなく、染色した色紙を一片ずつ貼ってあるので、色票の部分が盛り上がっている。

〔参考文献〕

Ostwald, W. : “*Grosse Männer : Studien zur Biologie des Genies.*” Leipzig (1909). ; Ostwald, W. : “*Farbkunde,*” Leipzig (1923). ; Ostwald, W. : “*Lebenslinien, eine Selbstbiographie.*” 3 Bände, Berlin (1926). ; Walden, P. “Wilhelm Ostwald”, *Berichte der Deutsch. Chem. Gesell.*, **A 65**, 101～141 (1932). ; Donnan, F. G. : “Ostwald Memorial Lecture”, *J. Chem. Soc.*, 316～332 (1933). ; Holt, N. R. : “A Note on Wilhelm Ostwald's Energism”, *Isis*, **61**, 386～389 (1970). ; 大幸勇吉「化学者としての予の思出」、『化学の領域』、第３巻、第12号（1949）. ; 都築洋次郎訳、『オストワルド自伝』、自伝第１巻の訳、東京図書（1979）. ; 日本色彩学会編、『新編・色彩科学ハンドブック』東京大学出版会（1998）.

酵母形質転換試薬 第2弾 分裂酵母用 新発売
S. pombe ダイレクトトランスフォーメーションキットワコー

遠心操作不要!!
ワンステップ!!

ご好評をいただいております出芽酵母形質転換キットに加え、分裂酵母（*Schizosaccharomyces pombe*）専用の試薬キットを発売しました。目的プラスミドと専用試薬の混合液を酵母培養液に直接加えるだけの簡単な操作で形質転換を行うことができます。従来法では困難であった多種菌株への同時処理が簡単に行えるため、お手持ちの遺伝子破壊株を用いたゲノムワイドスクリーニングが可能です。

本品は、多検体向けの96ウェルプレート法と、少数検体向けのチューブ法の2通りのプロトコールを用意しています。

特　長

- 目的プラスミドと専用試薬を加えるだけのワンステップタイプ
- コンピテント細胞の調製が不要
- 96ウェルマイクロプレートを用いることで、多検体処理が可能
- ハイスループット向けに分注しやすい低粘性試薬を採用

形質転換効率

≧250 cfu/μg

操作方法

■96ウェルプレート法

96ウェルプレート
↓ ←YES培地 25μℓ
コロニーを植菌
　静置培養，28-30℃，21-24時間
　菌体懸濁（プレートミキサー）
　←プラスミド・試薬混合液※　100μℓ
　混合（プレートミキサー）
↓ インキュベート，46℃，2時間*
スポッティング 10μℓ
↓ インキュベート，28-30℃，5-7日
形質転換酵母

＊42℃，4時間、または、37℃，6時間で行うこともできます。

■チューブ法

酵母の培養

YES培地 2mℓ
↓ ←コロニーを植菌
OD_{600}：0.2に調製
↓
1mℓを14mℓ容ツーポジションチューブに移す
↓ 振とう培養，28-30℃，OD_{600}：6.0-7.0まで
培養酵母・・・・A

形質転換

1.5mℓ容マイクロチューブ
　←プラスミド・試薬混合液※ 100μℓ
　←培養酵母（A）25μℓ
↓ インキュベート，37℃，2時間
プレーティング
↓ インキュベート，28-30℃，5-7日
形質転換酵母

※プラスミド・試薬混合液（1ウェル・1チューブ当たり）

Sp Transformation Reagent	90μℓ
プラスミドDNA	1μg
Carrier DNA	4μℓ
滅菌水で100μℓに調製	

キット内容

	(20回用)	(100回用)	(500回用)
Sp Transformation Reagent	2.25mℓ ×1	11.5mℓ ×1	57mℓ ×1
Carrier DNA (5 mg/mℓ)	0.1mℓ ×1	0.5mℓ ×1	1.25mℓ ×2

保存条件

−20℃保存

近日発売

コードNo.	品　名	規　格	容　量	希望納入価格（円）
290-64301	*S. pombe* Direct Transformation Kit *Wako*	遺伝子研究用	20回用	4,800
296-64303			100回用	11,000
294-64304			500回用	40,000

関連商品

出芽酵母用 好評発売中!

コードNo.	品　名	規　格	容　量	希望納入価格（円）
296-62701	*S. cerevisiae* Direct Transformation Kit *Wako*	遺伝子研究用	20回用	4,800
292-62703			100回用	10,000
290-62704			500回用	40,000

記載希望納入価格は本体価格であり消費税などが含まれておりません。

和光純薬時報 Vol. 74 No. 2
2006年4月15日 発行
発行責任者　松田知憲
編集責任者　鰐部梢子
発　行　所　和光純薬工業株式会社
〒540-8605　大阪市中央区道修町三丁目1番2号
TEL.06-6203-3741（代表）
URL http://www.wako-chem.co.jp
印　刷　所　共進社印刷株式会社

●和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。
E-mail　jiho@wako-chem.co.jp

●製品に対するお問合せはこちらまでお寄せ下さい。
フリーダイヤル　0120－052－099
フリーファックス　0120－052－806
E-mail　labchem-tec@wako-chem.co.jp